

Titre: Étude de l'influence de cycles gel-dégel sur le comportement d'un
Title: sable traité par biocalcification

Auteur: Jean-Baptiste Waldschmidt
Author:

Date: 2017

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Waldschmidt, J.-B. (2017). Étude de l'influence de cycles gel-dégel sur le
Citation: comportement d'un sable traité par biocalcification [Mémoire de maîtrise, École
Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/2527/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/2527/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Benoît Courcelles
Advisors:

Programme: Génie civil
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE CYCLES GEL-DÉGEL SUR LE COMPORTEMENT D'UN
SABLE TRAITÉ PAR BIOCALCIFICATION

JEAN-BAPTISTE WALDSCHMIDT

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVILS, GÉOLOGIQUES ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)

AVRIL 2017

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE CYCLES GEL-DÉGEL SUR LE COMPORTEMENT D'UN
SABLE TRAITÉ PAR BIOCALCIFICATION

présenté par: WALDSCHMIDT Jean-Baptiste

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. PASQUIER Philippe, Ph. D, président

M. COURCELLES Benoît, Doctorat, membre et directeur de recherche

M. YNIESTA Samuel, Ph. D, membre

DÉDICACE

Je dédie ce mémoire à Liz, ma plus belle réussite.

À Hisa, la source de mes passions.

Et à mes parents, ma base la plus solide.

Sans vous, je ne serais pas l'homme que je suis.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont tout d'abord à mon Directeur de recherche, Pr. Benoît Courcelles, qui a été d'une aide inestimable tout au long des travaux de recherche d'un projet particulièrement intéressant.

Les essais de géotechniques n'auraient pas pu être possibles sans l'aide de techniciens dévoués et compétents que sont Samuel, Geneviève et André.

Les conseils et l'aide du personnel du CREDEAU ont été un support inestimable pour l'aspect bactérien du projet, je tiens à remercier particulièrement Marie et Denis.

Enfin, je tiens à remercier le Centre de recherche, développement et validation des technologies et procédés de traitement des eaux (CREDEAU) pour l'accès aux laboratoires et équipements sans lesquels les résultats n'auraient pas vu le jour, ainsi que pour leur soutien technique.

RÉSUMÉ

Ce mémoire présente le développement d'un procédé de précipitation de carbonates de calcium par voie microbienne (usuellement appelé biocalcification ou MICP, en anglais, pour Microbially Induced Calcite Precipitation) via un mode de percolation. Cette technique repose sur le principe suivant : dans un milieu urée, l'activité enzymatique des bactéries *S. pasteurii* entraîne une modification locale du pH et la précipitation de calcium sous forme de carbonates. La biocalcification permet ainsi d'augmenter la rigidité d'un sol et d'en améliorer la résistance, sans pour autant le rendre imperméable. Conservant son caractère drainant, ce sol sera ainsi moins soumis aux impacts d'une infiltration d'eau.

Un tel sol, capable d'affronter des climats rigoureux et l'enchaînement de cycles gel-dégel, serait un matériau précieux pour la conception de routes plus durables dans des régions telles que le Québec. Les travaux présentés dans cette étude constituent donc une étape préliminaire au traitement des fondations et sous-fondations de voiries et a pour objectif général de comprendre comment se comporte un sol biocalcifié face aux cycles gels-dégels. Pour atteindre cet objectif, plusieurs objectifs spécifiques ont été avancés, ces derniers correspondent aux différentes étapes de l'étude. L'élaboration d'un protocole de traitement fiable est le premier de ces objectifs, s'en suit la caractérisation mécanique d'échantillons soumis à plusieurs cycles gel-dégel et l'analyse des résultats. Ces résultats montrent que les cycles n'ont pas d'effet significatif sur les échantillons, sauf éventuellement le dixième cycle de gel-dégel pour lequel les échantillons ont été brisés en deux au démoulage, ce qui a été interprété comme la conséquence de l'avancée de deux fronts de gel au lieu d'un seul à une extrémité.

Le protocole élaboré utilise assez peu de ressources et de moyens et est facile d'utilisation. Ce protocole a permis aux échantillons d'atteindre une teneur en CaCO_3 suffisante pour être soumis à une compression simple, tout en restant assez basse et donc peu coûteuse. La résistance atteinte par les échantillons lors de compression simple est liée à la teneur en carbonates de calcium présents dans l'échantillon et une corrélation a pu être extrapolée des résultats, de même pour l'étude du module d'Young. Cette courbe permet de mettre en avant le caractère exponentiel de l'impact de la teneur en carbonate de calcium sur la résistance de l'échantillon et sur le module d'Young, et ce, peu importe le nombre de cycles gel-dégel que le matériau a subi. L'étude de l'homogénéité interne de la teneur en cristaux montre une lacune du protocole actuel, certains

échantillons démontraient une teneur quatre fois plus importante à l'entrée (surface de percolation) qu'à la sortie de l'échantillon. Pour remédier à ce phénomène et pour approfondir la compréhension du comportement du matériau, différentes améliorations sont envisagées telles que des essais avec un volume de liquide de cimentation plus important, une étude précise de l'impact du débit sur l'homogénéité et des essais avec des saturations différentes lors de la fixation des bactéries. Ces essais permettraient de confirmer ou d'infirmer certaines hypothèses et permettraient de continuer à faire des liens avec d'autres essais présents dans la littérature.

ABSTRACT

This study presents a new protocol of calcium carbonate precipitation through a percolation mode, known as Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP). The process relies on the *S. pasteurii*'s enzyme activity which induces a local modification of the pH and the precipitation of calcium as carbonates in a urea medium. This method allows an improvement of the rigidity and the strength of the soil without any significant modification of its permeability. As the soil keeps its draining behavior, it is less subject to problems related to the infiltration of water.

This kind of soil able to withstand the cold climate and the repetitive freeze-thaw cycles would be a precious material for the conception of long-lasting roads in regions such as Quebec. The work presented in this study is preliminary to the application of the protocol to foundations and subfoundations of roads and aims to understand the behavior of biocalcified soil subjected to freeze-thaw cycles. This main objective has been divided in sub-objectives: the first one is to generate a reliable protocol, the second to perform freeze-thaw cycles on biocalcified samples and the last one to analyze the results.

These results show that the cycles do not have any significant impact on the samples except, eventually, the tenth cycle for which the samples have been broken. This observation might be caused by the development of two frozen fronts instead of one at an extremity of the samples.

The protocol uses as little resources as possible and is easy to use. It allows the sample to reach enough carbonated content to be tested through an unconfined compressive test while having a carbonate content low enough to be cost efficient. The strength and the CaCO_3 content are linked and a curve has been extrapolated from the data, such as for the elastic modulus. This curve points out the exponential impact of the calcium carbonate content on the strength and the Young modulus, whatever the number of freeze-thaw cycles. The study of the homogeneity of the samples shows a lack in the actual protocol. On some samples the content at the top (percolation surface) is four times higher than at the bottom (exit). To resolve this observation and to improve the understanding of the protocol, several tests have been proposed: to perform tests with more cementation liquid, to study the impact of the flow-rate on the homogeneity and to test another saturation degree during the bacterial fixation phase of the process. These tests will allow to confirm or not some of the hypothesis used in this document and they could help understanding the link with other authors' results.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT	VII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIII
LISTE DES FIGURES	XIV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XVIII
LISTE DES ANNEXES	XIX
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	4
2.1 Procédé de biocalcification	4
2.1.1 Précipitation de CaCO_3 par biocalcification	4
2.1.2 Description de <i>S. pasteurii</i>	7
2.2 Protocoles de traitement par biocalcification	8
2.2.1 Protocoles de biocalcification existants	8
2.2.1.1 Injection par pompage.....	8
2.2.1.2 Injection par percolation.....	10
2.2.2 Facteurs influençant la biocalcification.....	14
2.2.2.1 Choix de la bactérie.....	14
2.2.2.2 pH.....	14
2.2.2.3 Concentration en nutriment, utilisation d’une solution de fixation et impact de la minéralogie du sol	15
2.2.2.4 Degré de saturation.....	16
2.2.2.5 Injection de bactéries et leur état de croissance	18

2.2.2.6	Temps de cure entre chaque injection et durée totale du traitement	21
2.2.2.7	Débit d'injection.....	21
2.3	Cristallisation du carbonate de calcium	22
2.3.1	Conditions de formation des cristaux de carbonate de calcium	22
2.3.2	Influence des bactéries sur les conditions de formation des cristaux de carbonates de calcium	23
2.3.2.1	Biocalcification	23
2.4	Comportement de divers matériaux vis-à-vis des cycles gel-dégel	24
2.4.1	Sable biocalcifié	24
2.4.2	Sol fin compacté.....	25
2.4.3	Roche carbonatée et calcite	26
2.4.4	Calcaire.....	28
2.4.5	Ciment et boues de papier calcinées	28
2.4.6	Grès	29
CHAPITRE 3	MATÉRIEL ET MÉTHODES	31
3.1	Matériel	31
3.1.1	Bactérie.....	31
3.1.2	Milieu de culture	31
3.1.3	Solutions de fixation et de cimentation	33
3.1.4	Sable de silice.....	35
3.1.4.1	Granulométrie.....	36
3.1.4.2	Densité relative, densité maximale et minimale.....	37
3.1.5	Support et moules.....	37
3.2	Protocole.....	39
3.2.1	Réalisation du milieu de culture et incubation	39

3.2.1.1	Milieu de culture	39
3.2.1.2	Culture et conservation des bactéries	41
3.2.1.3	Modèle de croissance dans un bouillon.....	41
3.2.2	Synthèse des différents traitements effectués et résultats préliminaires	44
3.2.2.1	Calcul de l'indice des vides.....	44
3.2.2.2	Choix de la taille du moule	45
3.2.2.3	Saturation des échantillons.....	45
3.2.2.4	Description des protocoles préliminaires et évolution du protocole	45
3.2.3	Description du protocole « optimal »	58
3.2.4	Pistes d'optimisation encore possibles	60
3.2.4.1	Douzième protocole	60
3.2.4.2	Treizième protocole.....	62
3.2.4.3	Quatorzième protocole	62
3.3	Tests	63
3.3.1	Coloration de Gram, de spores et test de mobilité	63
3.3.1.1	Préparation des lames de verre.....	64
3.3.1.2	Coloration de Gram	64
3.3.1.3	Coloration de spores.....	65
3.3.1.4	Test de mobilité.....	65
3.3.2	Cycles gel-dégel	66
3.3.3	Compression simple	68
3.3.3.1	Taillage du moule.....	68
3.3.3.2	Compression simple	69
3.3.4	Détermination de la teneur en carbonate de calcium	70

3.3.4.1	Différence de poids	70
3.3.4.2	Lessivage à l'acide	71
3.3.5	Rayon X et MEB	71
CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION.....		73
4.1	Résultat.....	73
4.1.1	Carbonate de Calcium	73
4.1.1.1	Type de cristaux	73
4.1.1.2	Teneur en carbonates de calcium	77
4.1.2	Résistance.....	83
4.1.2.1	Calcul des incertitudes	83
4.1.2.2	Mesures	85
4.1.2.3	Courbe de l'évolution de la résistance UCS en fonction du pourcentage de CaCO_3 et du nombre de cycles.....	86
4.1.3	Module d'Young	91
4.1.3.1	Détail des essais de compression simple.....	91
4.1.4	Cristal de sortie.....	98
4.1.5	Observations microscopiques.....	100
4.2	Discussion	103
4.2.1	Comparaison.....	103
4.2.1.1	Efficacité de la précipitation et résistance	104
4.2.1.2	Module d'Young	107
4.2.2	Pertinence du traitement face aux cycles gel-dégel	108
4.2.3	Pistes d'optimisation du traitement.....	109
4.2.3.1	In/Homogénéité du traitement.....	109
4.2.3.2	Différences entre les essais laboratoires et un éventuel essai terrain	110

4.2.4	Essais futurs à prévoir	110
4.2.5	Applications et attention.....	111
CHAPITRE 5 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....		113
BIBLIOGRAPHIE		114
ANNEXES		118

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Résumé de paramètres importants lors d'essais de divers auteurs	20
Tableau 2.2: Propriétés d'échantillons composés à 100% de calcite (Ceryan, Okkan, & Kesimal, 2012).....	28
Tableau 3.1: Éléments nécessaires pour la réalisation des milieux de culture de <i>S.pasteurii</i> (ATCC-11859)	32
Tableau 3.2: Concentration des éléments composants les milieux de cultures pour 1 L de milieu	32
Tableau 3.3 : Éléments de la composition des solutions de traitements bactériens, adapté de Ozdogan, 2010.	33
Tableau 3.4: Synthèse des solutions utilisées pour un protocole donné	34
Tableau 3.5: Synthèse des solutions utilisées pour un protocole donné (suite)	35
Tableau 3.6: Tableau de résultat d'analyse de la courbe granulométrique.....	36
Tableau 3.7: Évolution du protocole et modifications protocole par protocole.....	46
Tableau 3.8: Composition du milieu urée 2	59
Tableau 4.1: Résultats de l'analyse aux rayons X de l'échantillon 0-S	74
Tableau 4.2: Résultats de l'analyse aux rayons X de l'échantillon 0-C	76
Tableau 4.3: Résultats du lessivage à l'acide	81
Tableau 4.4: Paramètres des équations 4-3 et 4-4, extrait de St-Onge (2016).....	88
Tableau 4.5 : Calcul du module d'Young pour les échantillons testés en compression simple.	95
Tableau 4.6: Résultat de calcul du module d'Young pour les échantillons du protocole 14.....	97
Tableau 4.7: Résultats des rayons X sur le cristal de sortie	99
Tableau 4.8: Tableau comparatif d'éléments principaux entre ce rapport et la littérature	104
Tableau B.1 : Efficacité de la réaction.....	122
Tableau B.2: Efficacité de la précipitation.....	123

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: Réactions d'hydrolyse de l'urée, adaptée de Girinski (2009).....	5
Figure 2.2: Schéma d'un échantillon traité à l'aide d'une méthode par pompage	9
Figure 2.3: Essai terrain de biocalcification par pompage. (Leon A van Paassen et al., 2010).	10
Figure 2.4: Schéma du système pour une mise en œuvre par la méthode de percolation.	11
Figure 2.5 Représentation de la notion d'injection dans une colonne de sable selon Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2012)	12
Figure 2.6 : Variation de la résistance de l'échantillon en fonction de la profondeur, pour une colonne de 2 m de long traitée 10 fois, extrait de Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2014)..	13
Figure 2.7 Biocalcification d'un échantillon de 112 L, tiré de (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2014).....	13
Figure 2.8: Schéma de synthèse de la biocalcification, tiré de Jason T DeJong et al. (2010)	16
Figure 2.9: Image de la formation de carbonate de calcium entre des grains à différent degré de saturation, extrait de L. Cheng et al. (2013).....	17
Figure 2.10: Schéma de principe de la répartition de carbonate de calcium en fonction du degré de saturation, tiré de L. Cheng et al. (2013).....	18
Figure 2.11: Exemple d'une courbe de croissance bactérienne, adapté de Prescott (2003)	19
Figure 2.12: Comparaison de résistance UCS d'échantillons biocalcifié et traité au ciment portland soumis à 10 cycles gel-dégel (L. Cheng et al., 2013)	25
Figure 2.13: Évolution de la résistance d'échantillon d'argile silteuse en fonction du nombre de cycles gel-dégel subits (Li et al., 2014).....	26
Figure 2.14: Corrélation entre estimation et mesures, concernant la détérioration par le gel.....	27
Figure 2.15: Résultats d'essais de compression simple après cycles gel-dégel (Vegas et al., 2009)	29
Figure 2.16: Évolution de la résistance en compression simple et du module élastique d'échantillons de grès, tiré de Jia et al. (2015).	30

Figure 3.1: Courbe granulométrique du sable de silice utilisé.....	36
Figure 3.2: Exemple de montages utilisés.....	38
Figure 3.3: Schéma de principe du traitement des échantillons.....	38
Figure 3.4: Exemple de moule utilisé.....	39
Figure 3.5: Exemple de culture et son milieu.....	41
Figure 3.6: Évolution de l'absorbance en fonction du temps pour des cultures bactériennes selon des paramètres de concentration de colonies, de température et d'agitation.	42
Figure 3.7: Exemple de moule pour le protocole 1, 4 pouces de diamètre et 9 points d'injection.	47
Figure 3.8: Résultats du premier protocole de biocalcification	48
Figure 3.9 : Résultat du protocole 2.	49
Figure 3.10 : Résultat avec un échantillon de 4 po par 4 po, mélange des bactéries et quantité de liquide de cimentation percolé diminuée.	52
Figure 3.11 : Exemple d'échantillon obtenu après le protocole n°7.	53
Figure 3.12 : Exemple de graphique résultant d'un essai de compression simple pour un échantillon conçu avec le protocole 7, le pourcentage de carbonate de calcium est autour de 3%.....	53
Figure 3.13: Résultats protocole 8.....	55
Figure 3.14: Exemple d'échantillon résultant du dixième protocole.	57
Figure 3.15: Exemple d'échantillons résultant du dixième protocole et soumis à un test de compression simple.	58
Figure 3.16: Cristal précipité dans le récipient du liquide de sortie de traitement après quelques jours de séchage à l'air libre.	60
Figure 3.17: Quantité de carbonate de calcium, en pourcentage, calculé par différence de masse, en fonction de l'absorbance et de la concentration d'urée	61
Figure 3.18: Observation de la coloration de Gram de <i>S.pasteurii</i>	65
Figure 3.19: Image des bactéries pendant le test de mobilité.....	66

Figure 3.20: Outils utilisés pour le taillage d'un échantillon.....	68
Figure 3.21: Presse utilisée pour la compression simple	70
Figure 4.1: Analyse rayon X – Échantillon 0-S	74
Figure 4.2: Analyse aux rayons X – Échantillon 0-C	76
Figure 4.3: % d'augmentation de masse des échantillons, X-Y : X= nombre de cycles; Y= numéro d'échantillon.....	80
Figure 4.4: Évolution des résultats bruts de résistance en compression simple en fonction du nombre de cycles gel-dégel pour le protocole 11 (en noir) et 14 (en gris).	86
Figure 4.5: Résistance en compression simple en fonction de la teneur de carbonate de calcium L. Cheng et al. (2013)	87
Figure 4.6: Évolution du volume des ponts (cristal précipité entre les grains) en fonction du carbonate de calcium, L. Cheng et al. (2013).....	87
Figure 4.7 : Exemple type d'évolution de la résistance selon l'augmentation du % de CaCO_3	89
Figure 4.8: Résistance atteinte au test de compression simple en fonction du % de CaCO_3 mesuré.	90
Figure 4.9: Moyenne des résultats en compression simple et modèle	91
Figure 4.10: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons n'ayant pas subi de cycle de gel-dégel.....	92
Figure 4.11: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 1 cycle de gel-dégel.	92
Figure 4.12: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 2 cycles de gel-dégel.....	93
Figure 4.13: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 3 cycles de gel-dégel.....	94
Figure 4.14: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 5 cycles de gel-dégel.....	94

Figure 4.15: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour l'échantillon ayant subi 7 cycles de gel-dégel.....	95
Figure 4.16: Courbes de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour l'échantillon n'ayant pas subi de cycles de gel-dégel. Volume de cimentation de 300 ml. ...	96
Figure 4.17: Courbes de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour l'échantillon n'ayant pas subi de cycles de gel-dégel. Volume de cimentation de 1000 ml. .	96
Figure 4.18: Relation entre le module élastique et la teneur en calcite, tiré de L. Cheng et al. (2013)	97
Figure 4.19: Module d' Young obtenu en fonction du % de CaCO_3	98
Figure 4.20: Résultats de l'analyse aux rayons X du cristal de sortie.....	99
Figure 4.21: Exemples d'images de l'échantillon O-S	101
Figure 4.22: Exemples d'images pour l'échantillon 0-C.....	102
Figure 4.23: Courbe de la teneur en CaCO_3 en fonction de la profondeur pour un nombre de traitements différents.....	105
Figure 4.24: Résistance à la compression simple de segment de la colonne de 2m.	106
Figure 4.25: Évolution du module élastique en fonction de la teneur en CaCO_3 pour différentes saturation, adapté de L. Cheng et al. (2013)	108

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

<i>S. Pasteurii</i>	<i>Sporosarcina Pasteurii</i>
UCS	Résistance en compression simple (unconfined compressive strength)
ATCC	American Type Culture Collection
MICP	Microbially Induced Calcite Precipitation
n	Porosité
C_u	Coefficient d'uniformité
C_c	Coefficient de courbure
D_{60}	Diamètre pour passant à 60%
D_{30}	Diamètre pour passant à 30%
D_{10}	Diamètre pour passant à 10%
USCS	Unified Soil Classification System
ρ_{min}	Masse volumique minimum
ρ_{max}	Masse volumique maximum
G_s	Densité relative des grains
e	Indice des vides
ρ_e	Masse volumique de l'échantillon
ρ_s	Masse volumique de sol
S	Saturation
E	Module élastique/ module d'Young
ASTM	American Society for Testing Materials
σ_1	Contrainte principale
σ_2	Contrainte secondaire
σ_3	Contrainte secondaire
Ac	Section transversale corrigée
ε	Déformation axiale
Θ	Demi-angle de déviation

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A	Qualité de l'eau de la ville de Montréal.....	118
ANNEXE B	Efficacité de la précipitation	122

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

Le climat du Québec et ses amples variations de température entraînent de sévères cycles gels-dégels qui génèrent un impact important sur des ouvrages de génie civil telles les routes. Il n'est pas rare de voir des nids-de-poule, des fissures et autres dégâts liés au gel sur les routes du Québec. D'après le rapport annuel de 2015 du Ministère des transports du Québec, la qualité des chaussées sur l'ensemble du réseau est d'environ 80%, et ce depuis 2012. Cette mesure de la qualité est réalisée à l'aide de capteurs permettant d'obtenir le confort de roulement, comparé ensuite à l'indice de rugosité international (mesure normalisée pour le calcul du débattement que la suspension d'une voiture subie lorsqu'elle roule à 80km/h). Ce rapport met aussi de l'avant qu'approximativement 200 millions de dollars sont investis dans des travaux de réhabilitation de surface, et ce de façon régulière depuis au moins 10 années (Québec, 2015). Bien que le rapport ne différencie pas clairement les travaux de réparation liés aux dégâts du gel des autres travaux d'entretien, il semble cohérent de supposer qu'une partie des travaux de réhabilitation de surface est due aux effets réguliers de cycles gels-dégels. Ainsi, l'élaboration d'une fondation plus résistante au gel permettrait une diminution des déformations et des dégâts de la chaussée donc un gain potentiel important sur le long terme.

Dans les périodes de gel, l'avancée du front de gel dans une chaussée routière augmente sa résistance et, conséquemment, sa capacité portante. Cependant, lorsque les températures augmentent, la glace fond en commençant par la surface du sol. Comme la glace est imperméable, l'eau de fonte, issue de la couche dégelée en surface, s'accumule sur la couche inférieure, toujours gelée et imperméable. Combinée avec d'éventuelles pluies et la fonte de la neige, une quantité d'eau non négligeable s'accumule au-dessus du sol encore gelé en profondeur. La capacité portante de la route s'en trouve diminuée, ce qui provoque les nombreux dégâts observés.

Une piste possible d'amélioration de cette situation serait de mettre en place une couche de fondation qui possède à la fois une bonne résistance au cisaillement et une perméabilité importante de manière à éviter l'accumulation d'eau.

La méthode envisagée pour la réalisation de ces fondations est la « biocalcification », qui consiste à utiliser des bactéries pour faire précipiter un minéral, du carbonate de calcium, aux endroits stratégiques et en quantité maîtrisée. Cette méthode, basée sur l'observation de phénomènes

naturels, en est encore à ses premiers pas et l'objectif des recherches présentées est de comprendre comment se comporte un sol biocalcifié vis-à-vis des cycles gels-dégels. Le protocole élaboré vise une facilité de mise en œuvre et une bonne homogénéité du sol. La recherche d'une amélioration maximale des caractéristiques du sol n'est pas abordée dans ce rapport, mais peut être développée dans des futurs travaux.

L'Objectif Général (OG) de ce travail est de caractériser les effets que peuvent avoir des cycles gel-dégel sur des échantillons de matériaux granulaires biocalcifiés, dans une perspective d'application de la technique à des couches de fondations ou sous-fondations routières. L'atteinte de cet objectif a été divisée en 3 Objectifs Spécifiques (OS):

- (1) OS1 : Mettre au point un protocole de traitement fiable, reproductible, permettant d'obtenir un sol suffisamment résistant pour réaliser des essais mécaniques et applicable via les méthodes courantes de construction de chaussées routières,
- (2) OS2 : Déterminer, à l'aide d'essais de laboratoire avant et après cycles de gel-dégel, l'influence de tels cycles sur les caractéristiques mécaniques d'échantillons traités,
- (3) OS3 : Analyser, à l'aide d'observations à l'échelle microscopique, le type de précipités formés durant le traitement par biocalcification.

L'organisation de ce mémoire est la suivante :

- une **revue de littérature** présentée au **Chapitre 2** permet de faire une synthèse sur le procédé de traitement par biocalcification, ainsi que sur les effets des cycles gel-dégel sur différents matériaux,
- le **Chapitre 3, Matériaux et méthodes**, présente l'ensemble des matériaux et des protocoles mis en œuvre dans la présente étude, de même que la mise au point du protocole selon l'OS2,
- le **Chapitre 4, Résultats et discussion**, présente l'ensemble des résultats à l'égard des OS2 et 3, et présente des perspectives d'amélioration du protocole selon les observations effectuées,
- finalement, le **Chapitre 5, Conclusion et recommandation**, dresse un bilan de l'étude et formule des recommandations quant aux essais à poursuivre dans une perspective d'application de la technique à échelle pilote.

À noter que les éléments contenus dans ce rapport ne peuvent être utilisés à des fins de dimensionnement et que les conditions contrôlées du laboratoire ne peuvent garantir un succès sur le terrain. Des essais pilote de faisabilité devront être réalisés avant tout projet d'application de la méthode de traitement développée.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre présente une revue de littérature du domaine de la biocalcification et des cycles gel-dégel. Il est d'abord question de l'hydrolyse de l'urée, la réaction à l'origine de la biocalcification, puis de la bactérie, *Sporosarcina pasteurii*, qui sera utilisée lors du traitement. La revue de littérature se poursuit ensuite avec les protocoles de biocalcification existants, principalement les protocoles par injection et percolation, puis les facteurs influençant l'efficacité de la technique, tels le choix de la bactérie, le débit, la saturation ou encore le nombre d'injections de bactéries. Cette section comprend également des comparaisons critiques des résultats obtenus par les différents auteurs. Finalement, le chapitre aborde les types de cristaux de carbonate de calcium pouvant être formés par biocalcification, ainsi que le comportement de divers matériaux soumis à des cycles gels-dégels.

2.1 Procédé de biocalcification

La biocalcification est un procédé de précipitation de cristaux de carbonate de calcium (CaCO_3). Ce procédé naturel utilise des bactéries capables d'hydrolyser de l'urée et un milieu riche en urée et en ions calcium. À l'avenir, cette technique peut éventuellement se substituer aux techniques actuelles d'injection de coulis, de jet-grouting ou de densification des sols. Elle pourrait ainsi devenir une alternative pour le contrôle de l'érosion des berges, l'atténuation de poussières, le stockage de CO_2 dans le sol, l'atténuation de la liquéfaction des sols ou encore la réhabilitation par coprécipitation de contaminants (J. T. Dejong et al., 2013). Diverses méthodes de mise en œuvre de la calcification, permettant d'obtenir des résultats variés (résistance, étendue, ...), seront détaillées dans la présente section.

2.1.1 Précipitation de CaCO_3 par biocalcification

La précipitation de carbonate de calcium résulte de l'hydrolyse de l'urée dans un milieu riche en ions calcium, la bactérie *Sporosarcina pasteurii*, anciennement appelée *Bacillus Pasteurii*, (que nous appellerons *S. pasteurii* dans le reste de ce mémoire) en est le catalyseur. L'origine du nom *Bacillus Pasteurii* est dédiée à Miquel (1889). L'évolution vers *Sporosarcina pasteurii* est le fruit des travaux de Yoon et al. (2001). L'hydrolyse suit le schéma suivant (Girinski, 2009):

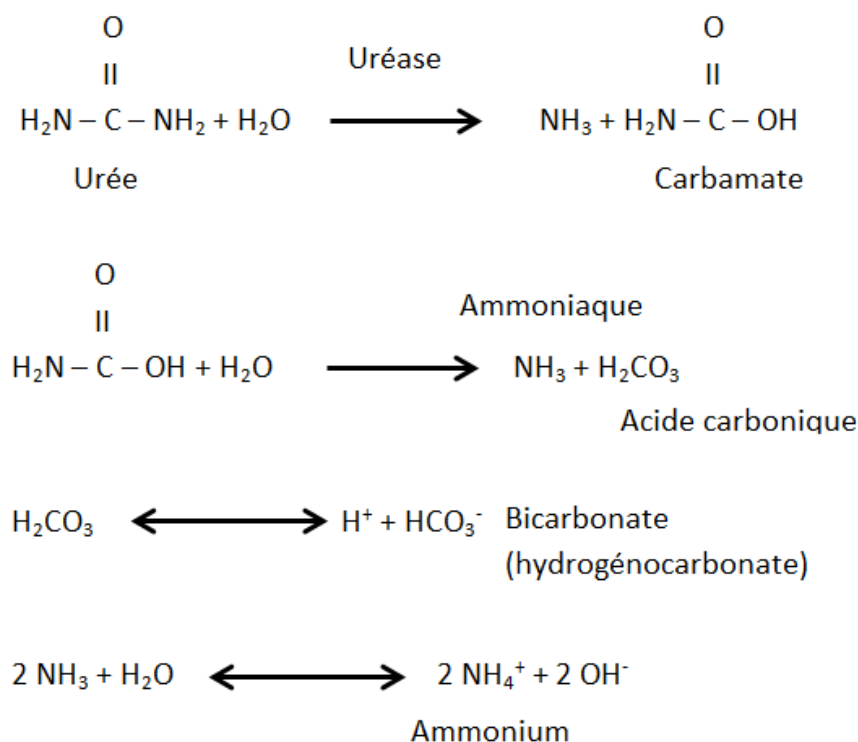
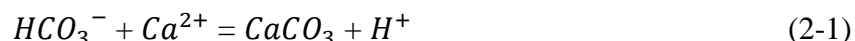


Figure 2.1: Réactions d'hydrolyse de l'urée, adaptée de Girinski (2009)

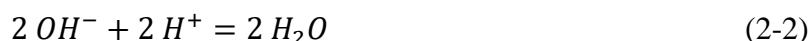
A l'échelle de la bactérie, les différentes étapes qui mènent à la précipitation suivent les étapes ci-dessous (Girinski, 2009; Hammes & Verstraete, 2002; Jahns, 1996; Stocks-Fischer, Galinat, & Bang, 1999):

- L'hydrolyse de l'urée permet, d'une part, la production de molécules d'ammoniaque qui se diffusent dans le micro environnement de la bactérie, c'est-à-dire au voisinage immédiat de la cellule. Cette accumulation de molécules d'ammoniaque entraîne une augmentation du pH lorsqu'elles réagissent avec les molécules d'eau. Il y a alors production d'ions hydroxyle et d'ions ammonium.
- L'hydrolyse de l'urée permet, d'autre part, la production de bicarbonates, dans le micro-environnement de la bactérie
- La forte concentration en ions ammoniums et en carbonates, ainsi que la présence de sites de nucléation sur la membrane de la cellule bactérienne, permettent la précipitation locale des cristaux.

En présence d'ions calcium Ca^{2+} en excès, des précipités de carbonate de calcium, $CaCO_3$, se forment à partir des ions bicarbonates HCO_3^- :



Les ions hydrogènes libérés lors de la réaction de dégradation de l'acide carbonique en un carbonate et les ions hydrogènes générés pendant la précipitation de carbonate de calcium réagissent alors avec les hydroxyles produits quand l'ammoniaque réagit avec l'eau pour devenir un ion ammonium :



On observe qu'en l'absence de Ca^{2+} , il y aura une augmentation du pH avec la production d'un ion hydroxyle. Or, la solubilité du $CaCO_3$ décroît avec l'augmentation du pH dans un milieu Urée- $CaCl_2$, cette augmentation de pH permet d'obtenir un milieu plus favorable à la précipitation de carbonate de calcium (Stocks-Fischer et al., 1999). L'étude de l'activité du *S. pasteurii* en fonction du pH, par ces mêmes auteurs conclut à un optimum de précipitation pour un pH entre 8 et 9.

Pour comprendre l'importance de la bactérie *S. pasteurii* sur la croissance des cristaux de carbonate de calcium, des essais dans une eau souterraine artificielle ont permis de comparer la croissance avec et sans bactéries. L'une des conclusions de ces travaux est que *S. Pasteurii* permet d'atteindre de plus gros cristaux (en moyenne 46% plus gros pour un temps de traitement identique de 7 jours), donc augmente la vitesse de croissance des cristaux, qui semblent plus stables, c'est-à-dire moins propices à la dissolution, de par leur taille plus importante. Malheureusement, ces travaux ne présentent pas de coefficient de solubilité associé aux cristaux précipités avec et sans bactéries (Mitchell & Ferris, 2006; Warren, Maurice, Parmar, & Ferris, 2001).

D'après cette séquence de réactions, la précipitation du carbonate de calcium subit l'influence de 4 facteurs majeurs (Girinski, 2009; Hammes & Verstraete, 2002) : 1/ Le pH élevé; 2/ la concentration en ions Ca^{2+} ; 3/ la concentration en carbonate; 4/ la disponibilité de sites de nucléations.

2.1.2 Description de *S. pasteurii*

Les bactéries avec le gène *Bacillus* sont Gram-positif (Yoon et al., 2001), c'est-à-dire qu'elles réagissent lors d'une coloration de Gram (ce test est décrit dans la suite du rapport). La coloration de Gram fait partie du procédé d'identification des bactéries. La forme de ces bactéries est en bâtonnet, de 1 à 4 µm de long et 0.7 à 1 µm de diamètre (Girinski, 2009), le type de respiration de ces bactéries est aérobie (utilisation d'oxygène comme ressource énergétique pour croître) ou anaérobie facultative (fermentation pour le développement) (Yoon et al., 2001). En cas de stress, ces bactéries peuvent sporuler, ce qui réduit leur taille à environ 1 µm de diamètre (Girinski, 2009; Yoon et al., 2001). Cette famille de bactéries est mobile grâce à un flagelle polaire (Girinski, 2009). Il s'agit d'une structure permettant la mobilité de la bactérie. Il est qualifié de polaire car il se trouve sur l'une des extrémités de l'organisme. Dans le cadre des objectifs de la biocalcification, une bactérie mobile permettra un meilleur positionnement des bactéries entre les grains, car celles-ci veulent éviter les forts courants de lessivage des sols (Jason T DeJong, Mortensen, Martinez, & Nelson, 2010; Harkes, van Paassen, Booster, Whiffin, & van Loosdrecht, 2010; Stocks-Fischer et al., 1999). Cependant, cette mobilité peut être un désavantage si les bactéries ne sont pas plaquées sur les grains, une précipitation autour d'une bactérie qui n'est pas entre deux grains n'améliore pas la cohésion du sol. Une observation au microscope de la couleur, la taille et la mobilité des bactéries permet de conclure à propos de l'identité de la bactérie présente ce qui permet de vérifier si les bactéries présentent après la culture sont celles souhaitées.

S. pasteurii, présente des propriétés rares (Wiley & Stokes, 1962; Yoon et al., 2001). Elle se développe uniquement dans un milieu alcalin (Wiley & Stokes, 1962). D'après ces auteurs, cette bactérie présente son maximum de croissance et d'oxydation pour un pH au voisinage de 9.2. Au-delà et en-deçà de cette valeur, l'oxydation, et par conséquent la croissance, diminue. Pour une bactérie, l'oxydation est un moyen d'extraire de l'énergie du milieu environnant en séparant une molécule propice de son atome d'oxygène, c'est la réaction que l'on peut observer quand la bactérie est en aérobie. D'autres auteurs ont obtenu des résultats un peu différents en ce qui concerne le pH optimal pour la réaction de l'activité de l'uréase. En effet, (Stocks-Fischer et al., 1999) ont remarqué que l'optimum du pH se situe plutôt au voisinage de 8.

S. pasteurii a une forte attirance pour le NH_4^+ , métabolisé en énergie par la bactérie par diverses réactions enzymatiques. La source des ions ammonium NH_4^+ détermine l'activité bactérienne, par exemple $(NH_4)_2SO_4$ permettrait une meilleure activité que d'autres sources de NH_4^+ comme le citrate d'ammonium (Wiley & Stokes, 1962).

Le pH élevé et la concentration en ions ammonium NH_4^+ sont des conditions déterminantes qui favorisent le transport de substrats à travers la paroi de la bactérie vers l'intérieur de celle-ci. Cette condition externe se différencie du milieu intérieur de cette cellule qui est à pH 6.8, soit très près de la neutralité (Wiley & Stokes, 1963).

L'urée est une molécule importante pour *S. pasteurii*, principalement quand la concentration du biotope (milieu de vie) de la bactérie ne présente pas une bonne concentration en ammonium. Grâce à l'hydrolyse de l'urée par l'uréase, il y a une alcalinisation du milieu et production d'ammonium, de ce fait, l'urée permet à *S. pasteurii* d'accéder à son énergie chimique, de se développer et de réguler son environnement (Girinski, 2009).

2.2 Protocoles de traitement par biocalcification

Il existe plusieurs méthodes qui permettent l'utilisation de bactéries pour cimenter un sol traité. La méthode la plus utilisée est de répandre les bactéries dans le sol par un réseau de puits ou de tranchées d'injection et de pompage. Cette méthode sera dénommée **méthode par pompage** dans la suite du mémoire. Une autre méthode consiste à injecter les bactéries et les nutriments par percolation à la surface du sol. Cette méthode sera dénommée **méthode par percolation** dans la suite du mémoire.

2.2.1 Protocoles de biocalcification existants

2.2.1.1 Injection par pompage

La méthode d'injection par pompage est la première à avoir été étudiée et expérimentée, elle vise à contrôler le débit qui circule dans le sol traité par des pompes. Parmi les études de nombreux auteurs ayant utilisé cette technique, plusieurs caractéristiques émergent tel que détaillé ci-après.

En laboratoire, on retrouve principalement deux types d'injection : par le haut (L. Cheng, Cord-Ruwisch, & Shahin, 2013; Girinski, 2009) ou par le bas (Harkes et al., 2010; Ozdogan, 2010; Whiffin, 2004; Whiffin, van Paassen, & Harkes, 2007).

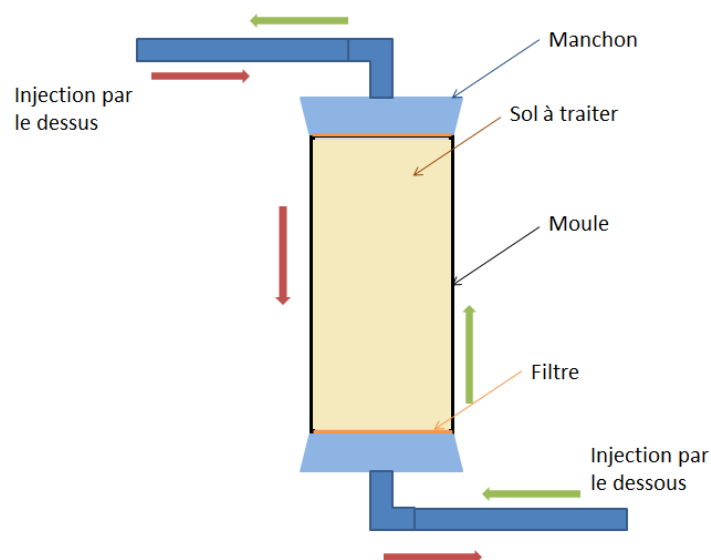


Figure 2.2: Schéma d'un échantillon traité à l'aide d'une méthode par pompage

Quand l'injection se fait du bas vers le haut, l'échantillon a tendance à être complètement saturé, c'est-à-dire que l'espace vide entre les grains (les pores) sera rempli d'eau. Si l'injection se fait du haut vers le bas, il faudra un débit plus important pour permettre la saturation. Si le débit est trop lent, le déplacement des liquides réactifs sera gravitaire et la méthode ne sera plus par injection mais par percolation (L. Cheng et al., 2013; Harkes et al., 2010; Whiffin, 2004; Whiffin et al., 2007). En revanche, il est possible de réguler la saturation avec une pompe à l'exutoire (L. Cheng et al., 2013).

Sur le terrain, le procédé est souvent mis en œuvre en conditions saturées à l'aide de puits d'injections et d'extractions. En comparaison au schéma de laboratoire, les points correspondant à l'entrée/sortie des liquides de traitement, ils ne sont alors pas alignés à la verticale mais à l'horizontale (cf. Figure 2.3). Il est envisageable d'atteindre des traitements sur une longueur d'environ 5m de cette manière (van Paassen, Ghose, van der Linden, van der Star, & van Loosdrecht, 2010).

L'utilisation de cette méthode a donné naissance à une injection en trois phases. La première phase consiste à injecter une solution bactérienne et la deuxième phase, dite de fixation, consiste

à accrocher les bactéries aux grains de sol grâce à l'utilisation d'une solution fixatrice. Cette fixation est due au comportement électronégatif des bactéries qui, en présence d'une forte concentration d'ions positifs, comme des sels de calcium, vont s'accrocher aux ions et aux grains (Jason T DeJong et al., 2010; Harkes et al., 2010). La troisième phase consiste à injecter plusieurs fois une solution dite de cimentation en respectant un temps de cure entre chaque injection (Leon A. Van Paassen et al., 2010; Whiffin et al., 2007). Les solutions de fixation et de cimentation sont composées d'urée et de sels de calcium.

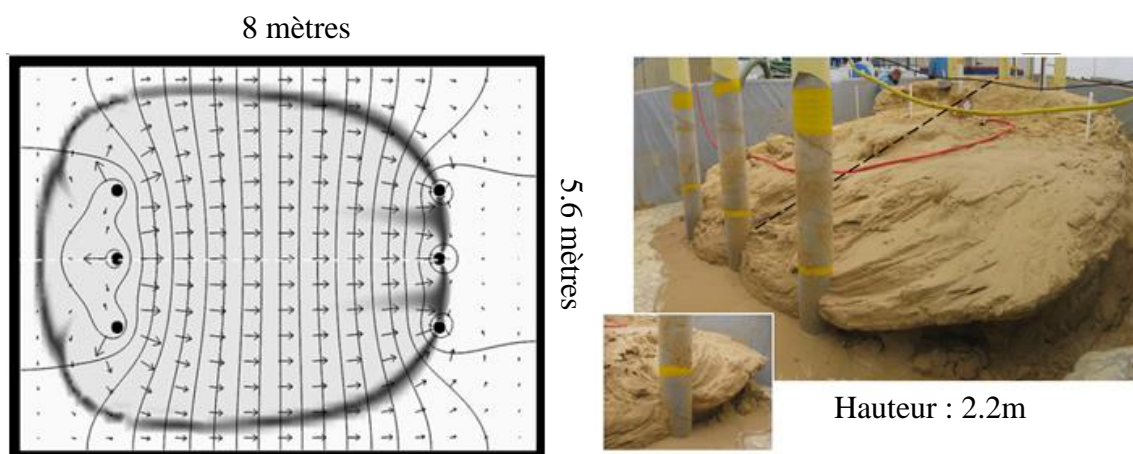


Figure 2.3: Essai terrain de biocalcification par pompage. (Leon A van Paassen et al., 2010).

Les avantages et inconvénients des paramètres de cette méthode (tel que le degré de saturation) seront discutés au paragraphe 2.2.2 dans le rapport.

2.2.1.2 Injection par percolation

L'injection par percolation ne nécessite pas de forer des puits de pompage, le transport des solutions est effectué uniquement par les forces capillaires et la gravité; l'injection se fait alors en drainage libre. Elle permet une réalisation plus accessible que la méthode via pompage, mais elle peut être plus délicate pour traiter des fondations d'ouvrages déjà en place.

Contrairement à la méthode par pompage, peu d'auteurs ont étudié la méthode par percolation, les auteurs principaux étant les chercheurs Cheng et Cord-Ruwish. L'originalité des travaux présentés dans la présente étude réside donc dans le développement d'un protocole de traitement par percolation et la validation de ses performances.

Le schéma de principe de la méthode par percolation est présenté sur la Figure 2.4.

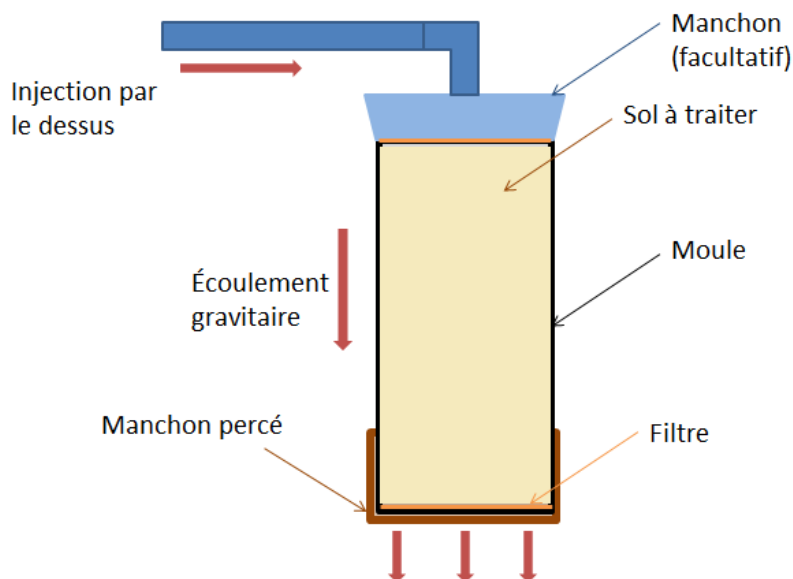


Figure 2.4: Schéma du système pour une mise en œuvre par la méthode de percolation.

Il est à noter que le manchon au bas de la Figure 2.4 est facultatif, les réactifs peuvent être déployés directement au-dessus du filtre, ou du sol.

Cette méthode ne modifie pas l'utilisation des trois phases décrites précédemment (mélange bactérien, fixation, cimentation). En revanche, les auteurs Cheng et Cord-Ruwish utilisent une méthode unique : l'alternance répétée de liquide bactérien (A) et de liquide de fixation (B). Pour faciliter la compréhension de certains éléments, une alternance A-B est nommée une injection. Trois injections correspondent alors à la séquence suivante : A-B; A-B; A-B (cf. Figure 2.5, d'après (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012)).

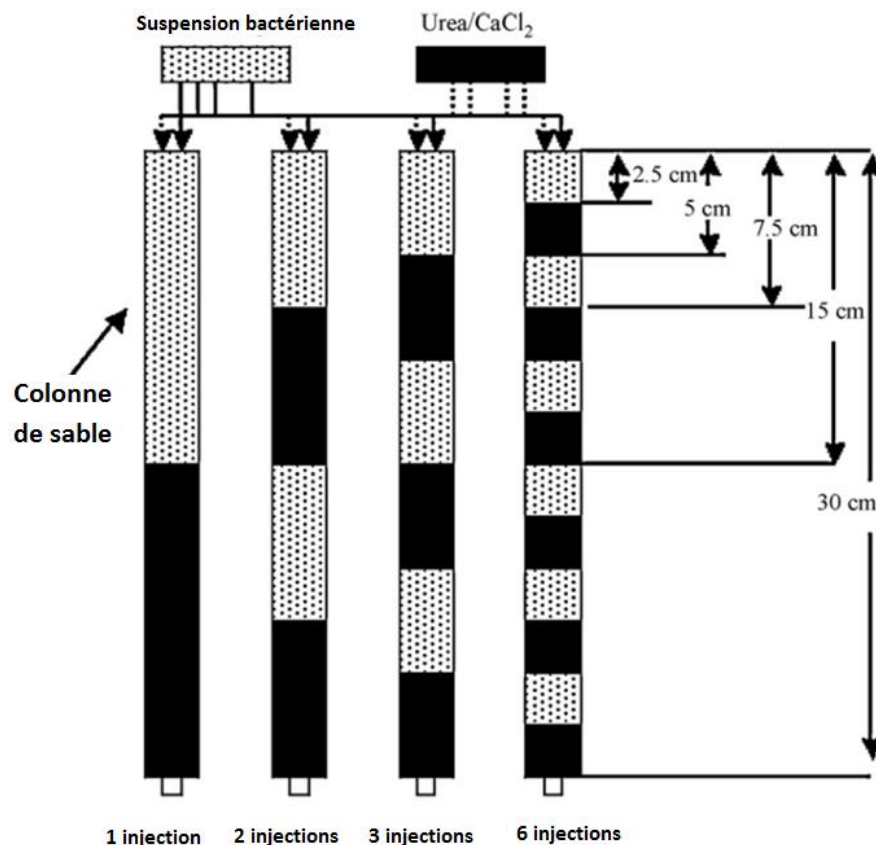


Figure 2.5 Représentation de la notion d'injection dans une colonne de sable selon Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2012)

Parmi les difficultés de mise en œuvre de la méthode de percolation, il faut noter que la profondeur de traitement est relativement faible et non homogène comme le présente la Figure 2.6 (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012, 2014). On observe que pour 3 injections la résistance à la compression simple du sol décroît sur environ 1m avant de se stabiliser à environ $1/6^e$ de la valeur en entrée. Pour 6 injections, la résistance double entre le point d'injection et environ 10 cm, avant de chuter rapidement jusqu'à 50 cm de profondeur. La décroissance de la résistance est ensuite plus douce, avant de se stabiliser à environ 1m avec une résistance de l'ordre de 10% de la résistance d'entrée. La résistance en profondeur est donc plus faible pour un traitement à 6 injections que pour un traitement à 3 injections.

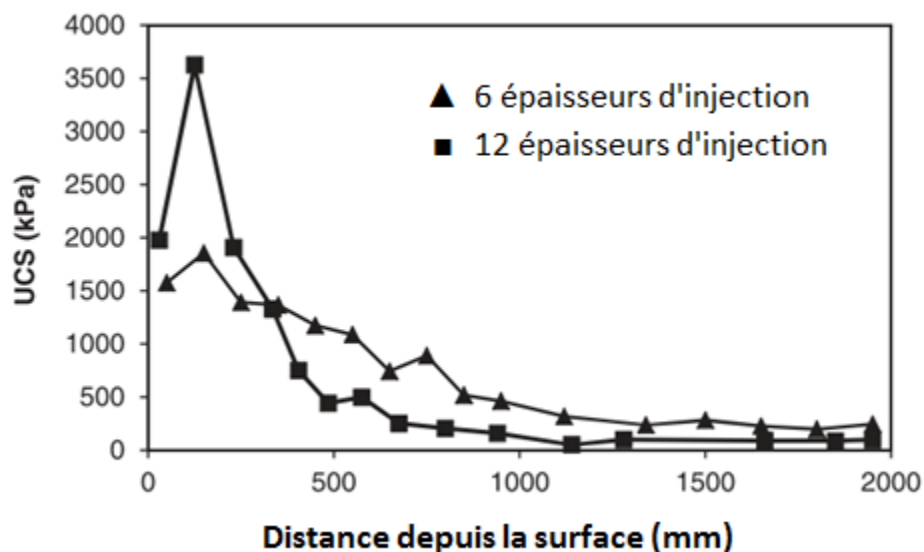


Figure 2.6 : Variation de la résistance de l'échantillon en fonction de la profondeur, pour une colonne de 2 m de long traitée 10 fois, extrait de Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2014)

D'un point de vue industriel, il n'y a pas encore de protocole testé et approuvé à grande échelle. En revanche, il existe des essais sur des échantillons relativement importants. Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2014) ont testé le protocole sur un échantillon de 112 L composé d'une couche de sable de silice fin recouvrant une couche de sol sablonneux, le moule utilisé est d'en moyenne 47 cm de diamètre pour 70 cm de hauteur (cf. Figure 2.7). Cependant, ce protocole nécessite de garder une couche d'environ 5 cm de liquide de réaction au-dessus de l'échantillon, ce qui peut être une complication pour les protocoles industriels.



Figure 2.7 Biocalcification d'un échantillon de 112 L, tiré de (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2014)

2.2.2 Facteurs influençant la biocalcification

2.2.2.1 Choix de la bactérie

Les critères de choix de la bactérie se basent sur les besoins de l'ensemble des étapes de la précipitation de carbonate de calcium. Whiffin (2004) a étudié deux souches de bactéries particulièrement actives parmi les organismes producteurs d'uréase : *S. pasteurii* et *Proteus Vulgaris*. Les critères recherchés pour une biocalcification optimale sont :

- forte capacité de production d'uréase,
- capacité de production de l'uréase en présence d'ammonium,
- bonne robustesse,
- production fiable,
- peu d'opérations nécessaires avant son utilisation pour la cimentation.

Les résultats montrent que *S. pasteurii* présente une plus grande production d'uréase que *P. Vulgaris*, une plus grande concentration d'uréase par bactérie, sans prétraitement ce qui permet un coût de production 15 fois plus faible (90 \$ contre 1 330\$ pour 100 L) et un besoin de milieu riche en ammonium (Whiffin, 2004; Wiley & Stokes, 1962, 1963).

En comparant des études concernant d'autres types de bactéries productrices d'uréase, il s'avère que *S. pasteurii* fait partie de celles ayant la plus forte activité et *P. Vulgaris* ayant la plus faible (Whiffin, 2004).

Les auteurs L. Cheng et al. (2013); De Muynck, Debrouwer, De Belie, and Verstraete (2008) ont utilisé une autre bactérie : *Bacillus Sphaericus*, mais il n'y a pas eu d'étude comparative entre cette bactérie et *S. pasteurii*.

2.2.2.2 pH

Pour rappel, le pH est un des facteurs clés de la biocalcification (Hammes & Verstraete, 2002). Plus précisément, un fort pH dans un milieu Urée- CaCl_2 permet une meilleure précipitation. La maîtrise du pH est donc un point fondamental car pour *S. Pasteurii*, son activité est maximale pour un pH entre 8 (Stocks-Fischer et al., 1999) et pH=9.2 (Wiley & Stokes, 1962, 1963).

2.2.2.3 Concentration en nutriment, utilisation d'une solution de fixation et impact de la minéralogie du sol

Les protocoles, par pompage ou percolation, utilisent une injection en deux phases, la première est l'injection de bactéries et la deuxième est une solution de fixation.

La concentration en ions d'une solution modifie l'adsorption des bactéries en suspension dans cette solution (Harkes et al., 2010; Scholl, Mills, Herman, & Hornberger, 1990). Pour *S. pasteurii*, une solution avec une forte salinité entraîne une forte adsorption, ce qui permet une bonne adhésion des bactéries à la surface des grains de sols. À l'inverse, s'il est préférable que les bactéries soient diffusées dans tout l'échantillon, une faible salinité permettra un traitement plus en profondeur (Harkes et al., 2010).

La précipitation de carbonate de calcium ne peut se faire qu'en présence des éléments réactifs (les ions calcium et les carbonates). Cependant, une augmentation linéaire de la concentration d'urée et de calcium n'entraîne pas une augmentation linéaire de la quantité de carbonates de calcium précipités. Il semble y avoir un plateau maximum, dans les conditions des tests réalisés, vers une concentration équimolaire d'urée et de calcium de 1.5 M (Whiffin, 2004). Dans la continuité de cette étude, l'uréase de *S. pasteurii* semble être inhibée par une concentration d'urée supérieure à 1.5 M, le maximum étant atteint entre 1 et 1.5 M (Whiffin, 2004).

Des travaux de recherches plus récents montrent qu'une augmentation de la disponibilité des nutriments (avec des injections fréquentes) pour les bactéries permet de favoriser la croissance des bactéries et la production de carbonate de calcium. Cependant, la recherche précise d'une limite inhibitrice concernant la concentration des matériaux n'est pas l'objet de la présente étude. En revanche, ces travaux permettent de présenter l'importance de la composition minéralogique du sol traité. Un sol composé de sable de quartz pur ne permet pas d'obtenir une concentration en CaCO_3 aussi grande qu'un sol à minéralogie variée. En moyenne, on obtient 10% massique de CaCO_3 après traitement d'un sol de quartz pur, contre 40-50% pour le sol à minéralogie variée (Gurbuz, Sari, & Yuksekdog, 2015).

Le choix de la source de calcium pour la biocalcification n'est pas anodin. En effet, la plupart des recherches sont menées avec du chlorure de calcium. Cependant, certains effets néfastes du chlore, notamment sur le béton, mènent certains chercheurs à utiliser d'autres sources de calcium comme l'acétate de calcium et le nitrate de calcium (Zhang, Guo, & Cheng, 2015). Il est

cependant important de noter que les travaux de Whiffin montrent que le nitrate semble jouer un rôle important dans l'inhibition de la réaction (Whiffin, 2004).

L'utilisation d'acétate de calcium semble produire une résistance plus importante que celle générée avec du chlorure de calcium (résistance UCS 2.45 fois plus importante). Ce composant semble aussi améliorer l'uniformité sur une surface plus importante. En revanche, les analyses aux rayons X montrent le cristal précipité comme étant de l'aragonite et non de la calcite (Zhang, Guo, & Cheng, 2014; Zhang et al., 2015).

2.2.2.4 Degré de saturation

L'un des inconvénients majeurs du travail en milieu saturé est le manque de contrôle sur le placement des bactéries, en particulier des microorganismes mobiles comme *S.pasteurii*. En effet, la saturation peut diminuer la quantité de bactéries présentes entre les grains et réduire l'efficacité du traitement (Harkes et al., 2010).

Puisque la cristallisation se produit principalement dans le micro-environnement de la bactérie, pouvoir la placer de façon souhaitée peut permettre d'améliorer les gains de résistance obtenus avec le traitement. Le principe de la solution de fixation permet de plaquer les bactéries sur les parois, mais il a été observé une précipitation dans l'espace comblé par le liquide de traitement (J. T. DeJong et al., 2011; J. T. DeJong et al., 2013; Hall-Stoodley, Costerton, & Stoodley, 2004; Harkes et al., 2010) (cf. Figure 2.8).

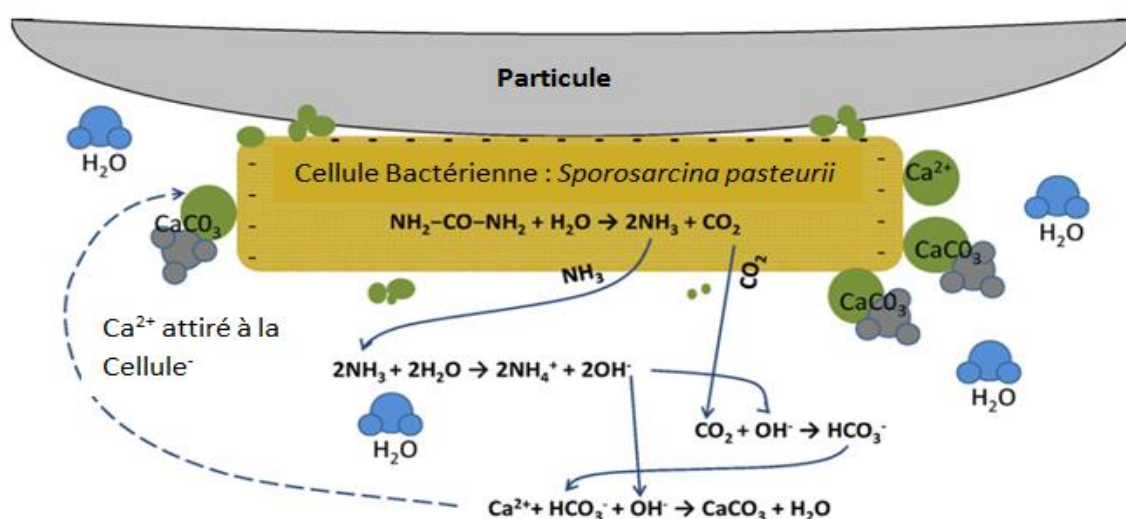


Figure 2.8: Schéma de synthèse de la biocalcification, tiré de Jason T DeJong et al. (2010)

De cette observation, des essais ont permis de comprendre comment les cristaux précipitent en fonction du degré de saturation (cf. Figure 2.9). Ainsi, les essais ont montré où se placent les bactéries avant la cristallisation. Des images microscopiques d'échantillons traités à 20% (à droite de la Figure 2.9) et 100% (à gauche) de saturation montrent que la cristallisation pour $S=100\%$ est chaotique, la surface des grains présente de nombreuses petites excroissances qui sont en fait des « blocs » de cristaux précipités. En revanche, les images d'échantillons traités à 20% présentent un aspect beaucoup plus lisse de la précipitation, les ponts entre les grains sont plus visibles, la précipitation semble plus concentrée autour et entre les grains de sol (L. Cheng et al., 2013) Une schématisation de ces résultats est fournie sur la Figure 2.10.

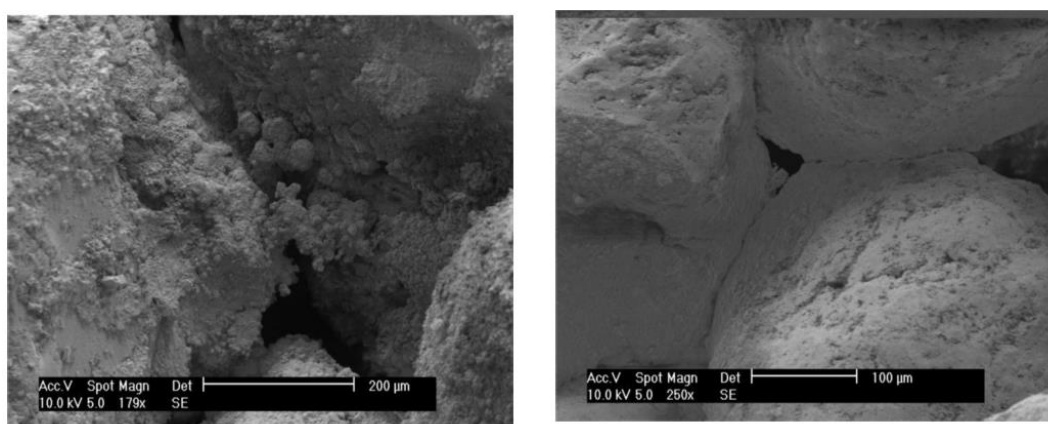


Figure 2.9: Image de la formation de carbonate de calcium entre des grains à différent degré de saturation, extrait de L. Cheng et al. (2013)

Les différents tests réalisés par L. Cheng et al. (2013) sur des sols traités à différents degrés de saturation montrent une résistance relativement similaire pour des précipitations différentes (pour une résistance UCS de 1 000 kPa, il faut environ 3% de carbonates de calcium pour une saturation de 20% contre environ 10% pour une saturation de 100%). Plus le degré de saturation est bas, moins l'échantillon présente de carbonates de calcium, sans pour autant avoir une différence de résistance significative. Ainsi, diminuer le degré de saturation permet d'obtenir une résistance plus grande pour un taux de carbonate de calcium identique. L'efficacité de la précipitation en est ainsi améliorée (L. Cheng et al., 2013).

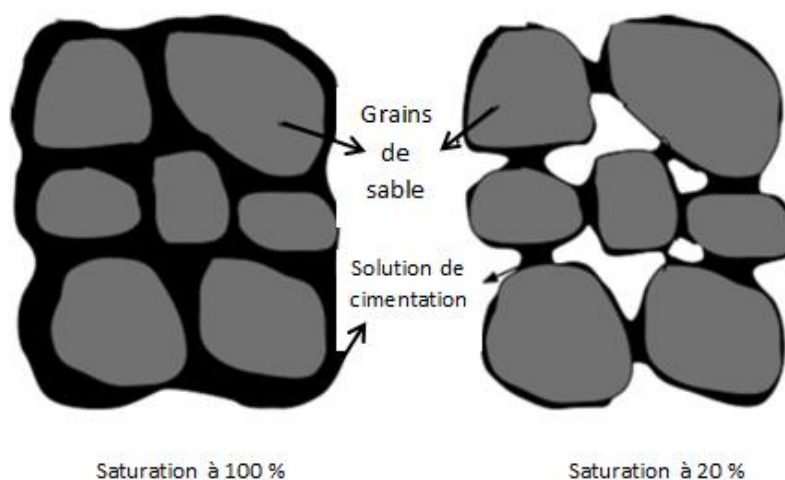


Figure 2.10: Schéma de principe de la répartition de carbonate de calcium en fonction du degré de saturation, tiré de L. Cheng et al. (2013)

2.2.2.5 Injection de bactéries et leur état de croissance

Pour toutes les méthodes utilisées, les auteurs choisissent de réaliser la préparation de la solution bactérienne lorsque les bactéries sont à la fin de la phase exponentielle de leur croissance. Les bactéries tendent à suivre une courbe de croissance similaire représentée à la Figure 2.11 (Prescott, 2003):

- 1- la première phase, dite de latence représente le temps que les bactéries mettent à s'adapter à leur substrat pour produire les enzymes nécessaires à leur survie,
- 2- la phase de croissance exponentielle, due au dédoublement répété des bactéries,
- 3- la phase de ralentissement, due à un manque de nutriments,
- 4- la phase stationnaire, lorsqu'il y a autant de bactéries qui se multiplient que de bactéries qui se meurent,
- 5- la phase de déclin, lorsqu'il n'y a plus de ressources pour la croissance.

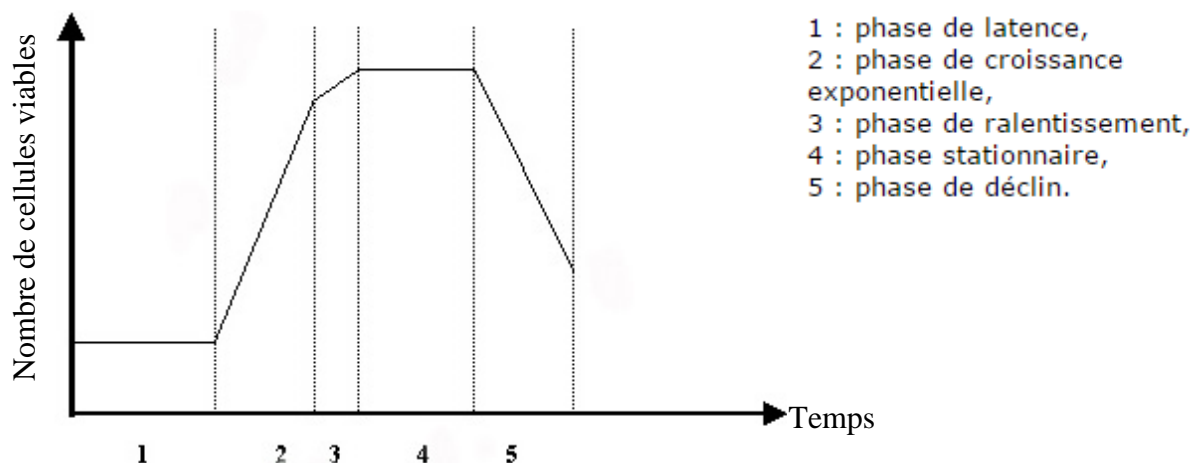


Figure 2.11: Exemple d'une courbe de croissance bactérienne, adapté de Prescott (2003)

La méthode pour déterminer la phase exponentielle de croissance des bactéries sera détaillée dans le chapitre suivant. Pour déterminer l'absorbance de ces bactéries, la densité optique est lue pour 600 nm (Stocks-Fischer et al., 1999) (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012) (Harkes et al., 2010; Ozdogan, 2010; Whiffin, 2004)

Le Tableau 2.1 représente plusieurs protocoles, leurs auteurs, les absorbances et le nombre d'injections de bactéries respectives.

La plupart de ces auteurs utilisent la méthode d'injection par pompage avec une seule injection de bactéries, mais l'absorbance n'est pas un paramètre constant. On observe que certains auteurs choisissent une absorbance près de deux fois plus importante que d'autres.

Tableau 2.1: Résumé de paramètres importants lors d'essais de divers auteurs

Auteurs	Méthode utilisée	Bactéries utilisées	Absorbance à 600 nm	Nombre d'injection de bactéries
(Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012)	Percolation	<i>Bacillus Sphaericus</i>	Diluée pour rester entre 0.2 et 1	Une seule en alternée avec une solution de fixation (CaCl ₂ + urée)
(Chu, Stabnikov, & Ivanov, 2012)	Multiple	<i>Bacillus Sphaericus</i>	NA / concentration de biomasse de 8g sec/L de liquide de culture	6 injections de bactéries
(Gurbuz et al., 2015)	Pompage	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	NA	-une seule au début -une au début puis une autre 1 mois après (uniquement 10% de carbonate de calcium supplémentaire par rapport à 1 injection)
(Yang & Cheng, 2013)	Pompage	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	Absorbance à 600 nm diluée pour rester entre 0.2 et 0.8	Multiples injections (une seule par cycle d'injection mais plusieurs cycles d'injection) une seule injection n'est pas suffisante et il en faut environ 6 pour avoir un bloc résistant à 20 MPa
(Dhami, Reddy, & Mukherjee, 2012)	Mélange avec bactéries puis liquide de cimentation versé sur le dessus	<i>Bacillus megaterium</i>	À 600 nm, densité optique de 1	Une seule
(Harkes et al., 2010)	Pompage	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	2.88 à 600 nm	Une seule
(Whiffin et al., 2007)	Pompage	<i>Sporosarcina pasteurii</i>	1.583 à 600 nm	Une seule

2.2.2.6 Temps de cure entre chaque injection et durée totale du traitement

Les bactéries utilisées sont actives en milieu urée. Le temps d'incubation des bactéries, en contact avec l'urée du liquide de cimentation, constitue donc un élément important. Un temps de repos de 24 heures entre chaque injection de solution de cimentation permet d'améliorer la fixation des bactéries, l'activité qui en résulte et la précipitation des cristaux (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012).

La durée totale du traitement du sol est un élément crucial pour les possibilités d'industrialisation de ce procédé. L'objectif est d'avoir un temps de traitement le plus court possible pour minimiser les coûts et l'indisponibilité des infrastructures. Cependant, la littérature présente une grande variété de temps et de protocoles. Au-delà du temps de traitement, il peut être pertinent de poser la question d'un temps avant finalisation de la réaction. Malheureusement, la littérature ne permet pas de comprendre si le temps est un facteur une fois le traitement terminé.

2.2.2.7 Débit d'injection

Le débit d'injection ou de percolation est un facteur important, puisque ce paramètre gère le temps de traitement, ainsi que le temps d'incubation ou de cure. Certains protocoles ne considèrent qu'une seule injection de solution de cimentation, mais laissent un temps de réaction long (102h) pour une durée totale d'environ 10 jours (Whiffin et al., 2007). D'autres procèdent aux traitements via des cycles d'injection de solution de cimentation et de temps de repos, d'une durée d'une journée (Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012) ou un peu plus longue (environ 3 jours) (Yang & Cheng, 2013). D'autres enfin préfèrent un traitement sur plusieurs semaines (Dhami et al., 2012).

Outre l'influence sur la durée totale du traitement, le débit d'injection est un paramètre qui gouverne plusieurs éléments. Ainsi, la vitesse d'écoulement a un impact sur la forme des cristaux précipités et donc sur l'ensemble des résultats potentiels du traitement de biocalcification (Whiffin, 2004).

Par ailleurs, un débit élevé peut également augmenter la perte de bactéries, qui peuvent être lessivées, et ainsi diminuer l'activité bactérienne dans les sols (Harkes et al., 2010).

Dans la méthode par percolation ou par pompage par le dessus, l'homogénéité de la précipitation est dépendante du niveau de la solution de cimentation. Si le niveau de la solution dépasse la

surface du sol traité, l'activité principale se situe à la surface du sol, ce qui peut entraîner la formation d'une croûte de carbonate de calcium en surface. A l'inverse, si le niveau de la solution est plus bas que la surface du sol traité, la littérature fait état d'une distribution plus uniforme du calcium dans le sol (Chu et al., 2012).

Selon Whiffin et al. (2007), le débit et les cycles d'injection des réactifs doivent être en adéquation avec la vitesse d'hydrolyse de l'urée. Si ces deux paramètres ne sont pas équilibrés, il y a un risque important de précipitation préférentielle au point d'entrée et de colmatage du dispositif d'injection sans précipitation en profondeur.

2.3 Cristallisation du carbonate de calcium

2.3.1 Conditions de formation des cristaux de carbonate de calcium

Les essais suivants réalisés par Wray and Daniels (1957) permettent de mieux comprendre la formation de l'un ou l'autre des cristaux de carbonate de calcium. Les principaux facteurs étudiés sont : la température (entre 30°C et 70°C) et le temps de réaction (de 6 min à 18h). Il est à noter que les éléments utilisés pour les mélanges avaient diverses impuretés (notamment plomb, strontium et barium) et que la réaction s'est faite à la température choisie. Les mélanges sont faits avec du $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et du Na_2CO_3 .

Vatérite

La présence de vatérite est surtout forte pour une température de 30°C, peu importe le temps de réaction bien que leur teneur diminue en fonction du temps, au profit de la calcite. Au-delà de 50°C il n'y a plus de vatérite.

Calcite

Cette formation de cristal est la plus présente pour une température entre 40 et 60°C. Un temps de réaction long permet de cristalliser l'aragonite en calcite.

Aragonite

Présente à partir de 45°C et d'un temps de réaction relativement court, l'aragonite se transforme la plupart du temps en calcite si un temps suffisamment long est laissé (sauf si le $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ est

mélangé avec du Na_2CO_3 pour une température de 70°C , dans ce cas, l'aragonite est toujours majoritaire).

Des tests de composition des cristaux montrent que l'aragonite tend à précipiter s'il y a les impuretés précédemment mentionnés (plomb, barium, strontium) sont en présence dans la solution.

Ces changements de type de cristaux semblent se faire rapidement uniquement en milieu humide, les chercheurs expliquant qu'il n'y a pas de changement si les cristaux sont séchés.

Ces tests, bien qu'utiles pour comprendre la formation de cristaux de façon générale, peuvent éventuellement être trompeurs dans le cas de la biocalcification. En effet, dans le cas de la précipitation biologique dans un sol, il n'est pas aisé de contrôler la température de ce sol, de plus, la présence de bactéries et d'un débit, il est possible que les cristallisations suivent un comportement différent de celui expliqué plus haut.

En revanche, il est intéressant de noter l'importance des impuretés dans le type de cristal précipité, selon le sol d'accueil du traitement de bio calcification, il se peut que le cristal soit de l'aragonite au lieu de calcite.

Concernant les températures inférieures à 30°C , il est vraisemblable que la vaterite occupe une place importante et diminue au fil du temps, sans que l'aragonite ne se forme. Donc former de la calcite à 20°C serait une question de temps principalement.

2.3.2 Influence des bactéries sur les conditions de formation des cristaux de carbonates de calcium

2.3.2.1 Biocalcification

La disponibilité de sites de nucléation influence également la précipitation des cristaux de carbonates de calcium (Hammes & Verstraete, 2002). Ces derniers sont des aspérités ou irrégularités de surface, par exemple, un défaut dans la formation d'un cristal peut être un site de nucléation pour un nouveau cristal, l'arrêt du cristal ou d'autres éléments comme de la matière organique (Girinski, 2009). Selon Jason T DeJong et al. (2010), les bactéries, chargées négativement, attirent les ions calcium chargés positivement, ce qui en fait d'excellents candidats comme sites de nucléation.

Par ailleurs, d'autres facteurs tels l'évolution des concentrations ou de l'activité enzymatique de *S. pasteurii* peuvent modifier la vitesse de formation des cristaux et donc leur taille ou leur forme (Whiffin, 2004). La forme des cristaux dépend en effet de la vitesse de précipitation. Une précipitation rapide entraîne des cristaux relativement mous et ainsi une résistance faible (phase amorphe), alors qu'une cristallisation lente permet d'atteindre une plus grande dureté et une meilleure cohésion (Whiffin, 2004). Cependant, il ne semble pas y avoir consensus sur le sujet puisque les recherches de Mitchell and Ferris (2006) soulèvent le fait que *S. Pasteurii* n'a pas d'effet sur la morphologie du cristal précipité. Il est alors possible de supposer que la morphologie de faible résistance évoquée par Whiffin (2004) est due à une teneur forte en vaterite.

Girinski (2009) retrouve ces éléments et détaille que la phase amorphe, à pression atmosphérique et à une température de 20-25°C, peut se transformer en une phase plus solide après 6 à 10h. Cette structure amorphe est composée d'hydroxydes de calcium, qui se transforme en cristaux de carbonate de calcium de moins en moins solubles c'est-à-dire, vaterite, aragonite, puis calcite. De par son produit de solubilité bas, l'aragonite est moins présente que la calcite (Gutjahr, Dabringhaus, & Lacmann, 1996; Kabasci, Althaus, & Weinspach, 1996; Nehrke & Van Cappellen, 2006).

2.4 Comportement de divers matériaux vis-à-vis des cycles gel-dégel

Pour pouvoir analyser correctement l'influence des cycles gel-dégel sur des matériaux biocalcifiés, il est pertinent de commencer par étudier le comportement de matériaux similaires face aux cycles gels-dégels. Cette revue de littérature commencera par des sols biocalcifiés via la méthode par pompage, à degrés de saturation précis et soumis à des cycles gel-dégel. Elle se poursuivra ensuite avec trois matériaux très riches en calcite ou carbonate de calcium. Enfin, elle abordera le cas du grès qui est un amas de grains de sable cimentés entre eux et donc la version plus naturelle du sol traité par biocalcification.

2.4.1 Sable biocalcifié

Les travaux de L. Cheng et al. (2013) se sont portés sur l'étude de la précipitation de carbonates de calcium pour un sol non saturé; cette condition étant réalisée avec une pompe à la sortie de l'échantillon permettant de réguler la sursaturation générée par la pompe à l'entrée. Les auteurs

ont ainsi étudié les performances d'échantillons de sable traités soumis à des cycles gel-dégels. Les échantillons possédaient des degrés de saturation S_r de 65% ou 100% lors de leur traitement par biocalcification et ont été comparés à des échantillons traités à l'aide de ciment Portland. Les cycles de gel-dégel consistaient en une immersion dans de l'eau (saturation des échantillons) et des changements de température à raison de 12h à -14°C suivis de 12h à température ambiante ($20^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Au total, 10 cycles ont été subis par les échantillons. Les résultats de ces essais sont présentés à la figure 2.12. Bien que l'incertitude des résultats soit assez grande, on remarque que la résistance atteinte avant et après les cycles est bien meilleure pour les échantillons à $S_r = 65\%$ que pour $S_r = 100\%$. On observe aussi que la perte de résistance due aux cycles gel-dégel est moins forte pour les échantillons biocalcifiés que pour ceux du ciment Portland. Les échantillons calcifiés ne présentent une perte que de l'ordre de 10%, alors que le ciment voit une perte d'environ 30% de résistance.

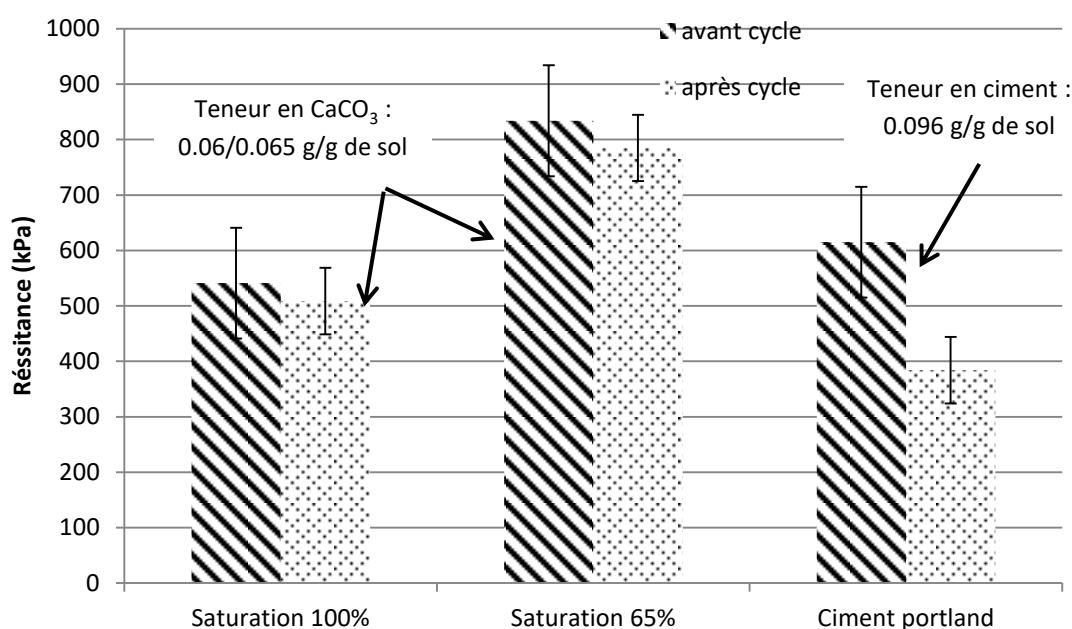


Figure 2.12: Comparaison de résistance UCS d'échantillons biocalcifié et traité au ciment portland soumis à 10 cycles gel-dégel (L. Cheng et al., 2013)

2.4.2 Sol fin compacté

Li, Ma, Zhao, Mao, and Mu (2014) ont étudié le comportement d'un sol fin, une argile silteuse avec une limite de liquidité de 26.9% et une limite de plasticité de 18.7%. Lors des essais, le sol a

été compacté de façon à être le plus près possible de la densité sèche maximale (1.91 g/cm³) et de la teneur en eau optimale (16.1%). Après une période de consolidation et d'homogénéisation de la teneur en eau dans l'échantillon de 24h, les échantillons ont subis les cycles suivants : 16h de gel à -30°C et 8h à 30°C. Les résultats sont présentés dans la figure suivante :

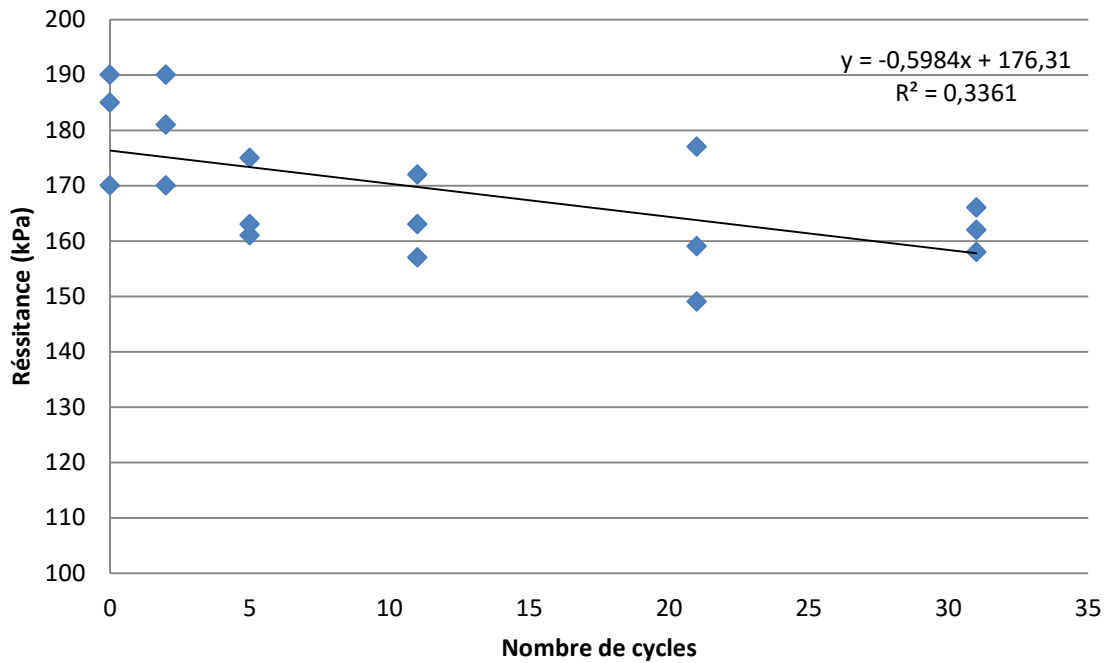


Figure 2.13: Évolution de la résistance d'échantillon d'argile silteuse en fonction du nombre de cycles gel-dégel subits (Li et al., 2014).

2.4.3 Roche carbonatée et calcite

Yavuz, Altindag, Sarac, Ugur, and Sengun (2006) ont élaboré une équation permettant d'estimer la perte de résistance à la compression simple en fonction du nombre de cycles gel-dégel subits par une roche carbonatée (cf. Eq. 2-3). Les travaux comprenaient la détermination de différentes propriétés des roches utilisées (porosité, densité et résistance à la compression simple), ainsi que des tests d'effet du temps et de cycles gels-dégels sur celles-ci. Les cycles gels-dégels ont été réalisés une fois les échantillons saturés, chaque cycle étant composé de 2h à -20°C suivi de 2h à 20°C.

$$I_N = I_0 * \left(\frac{\beta_0 + \beta_1 * I_0 + \beta_2 * n}{I_0} \right)^{0.05 * N} \quad (2-3)$$

Avec I la propriété étudiée, pouvant représenter la résistance UCS, en Mpa; I_N est la propriété après N cycles, I_0 est la propriété avant les cycles; n la porosité, en %.

Les coefficients β dépendent de la propriété étudiée, dans notre cas de résistance UCS leur valeur est : $\beta_0 = 4.11$; $\beta_1 = 0.83$; $\beta_2 = -0.38$. Ces valeurs sont issues de la corrélation entre la mesure et l'estimation comme présenté à la Figure 2.14.

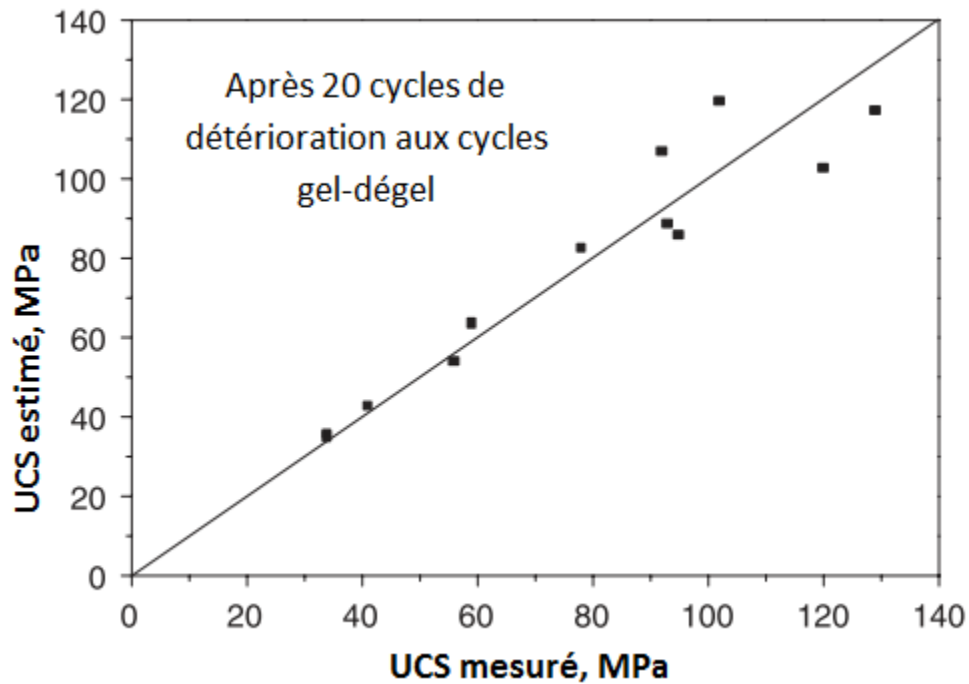


Figure 2.14: Corrélation entre estimation et mesures, concernant la détérioration par le gel

Afin d'avoir une idée de la résistance maximale théorique d'un échantillon biocalcifié, il est intéressant de connaître la résistance d'échantillons composés à 100% de calcite. D'après Ceryan, Okkan, and Kesimal (2012), la résistance à la compression simple d'un échantillon de calcite est de l'ordre de 20 MPa (Cf. Tableau 2.2).

Tableau 2.2: Propriétés d'échantillons composés à 100% de calcite (Ceryan, Okkan, & Kesimal, 2012)

	Échantillon 1	Échantillon 2
UCS ₀ , MPa	18.62	20.76
Porosité n, %	12.3	7.4

On observe que la courbe de la Figure 2.14 a été calibrée sur des valeurs de résistance supérieures à 30 MPa. L'application de l'équation 2-3 pour la résistance UCS, pour un sol tel que celui présenté au tableau 2.2 n'est donc pas possible en l'état. Comprendre comment la calcite se comporte face aux cycles gel-dégel peut être un atout pour interpréter les résultats d'un sol bio-calcifié, malheureusement, la littérature ne permet pas de fournir ce type d'information.

2.4.4 Calcaire

Les roches calcaires composées d'au moins 50% de calcite, le reste pouvant être de la dolomite, de l'aragonite ou de la sidérite, peuvent également constituer une source de référence pour le comportement d'un sol calcifié.

Les travaux de Bayram (2012) portent sur des tests de plusieurs roches calcaires, dans le but de prédire la perte (en pourcentage) de résistance à la compression simple de roches naturelles en fonction du nombre de cycles gel-dégel subits. Suivant la méthode locale de tests gel-dégel (Norme Turque, TS 699), des échantillons de 54 mm de diamètre pour 135 mm de hauteur ont été saturés, pour ensuite être gelés dans un bain à -20°C pendant 2h, puis dans un autre bain à 20°C pendant 2h. Ce cycle a été répété 25 fois pour chaque échantillon. En moyenne, les échantillons ont perdu 11.6% de leur résistance après ces 25 cycles, soit environ 10 MPa.

2.4.5 Ciment et boues de papier calcinées

De tels matériaux (mélange entre un élément « collant » et un autre solide) sont intéressants pour étudier un matériau biocalcifié, car un procédé similaire est à l'œuvre.

Dans les travaux de Vegas, Urreta, Frías, and García (2009), des échantillons composés de ciment portland et de boues calcinées à 0, 10 et 20% ont été soumis à des cycles de gel-dégel. Ces cycles consistaient en des variations de température de 12h à -20°C et de 12h à 15°C.

L'évolution de la résistance en compression simple de ces échantillons est représentée dans la Figure 2.15.

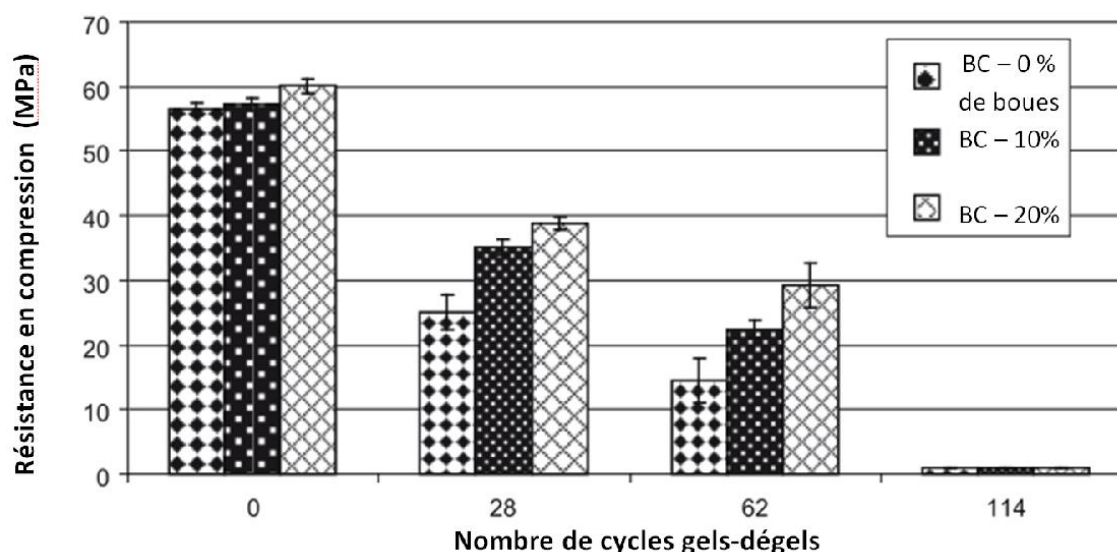


Figure 2.15: Résultats d'essais de compression simple après cycles gel-dégel (Vegas et al., 2009)

Bien que les résistances soient plus élevées dans ces essais que ceux de L. Cheng et al. (2013), probablement à cause de la différence de teneur en ciment et du temps de cure, on remarque encore que l'ajout d'éléments diminuant la porosité améliore le comportement face au gel-dégel. Dans ce cas, la porosité de l'échantillon BC-20 (ciment mélangé à 20% de boues calcinées) au cycle 0 est de 14.71% alors que la porosité de l'échantillon BC-0 (sans boues calcinées) est de 11.17%. Le premier démontre une résistance plus importante que le second, et ce, peu importe le nombre de cycles effectués. Ces résultats sont intéressants pour la biocalcification car ils soulèvent le fait qu'un mélange d'éléments solides et d'un liant permet une meilleure résistance qu'un élément homogène.

2.4.6 Grès

Des échantillons de grès fins (0.06-0.2mm), porosité de 5.23% et densité sèche de 2.48 g/cm³, composé de quartz à 50%, de calcite à 30%, de calcédoine à 15%, de feldspath à 5% et de moins

de 1% d'argile, ont été étudiés par Jia, Xiang, and Krautblatter (2015) pour comprendre leur comportement aux cycles gel-dégel.

Après une saturation sous vide pendant 48h, les échantillons ont été gelés à -10°C pendant 12h et dégelés pendant 12h à 20°C . Les résultats des tests UCS illustrés sur la Figure 2.16.

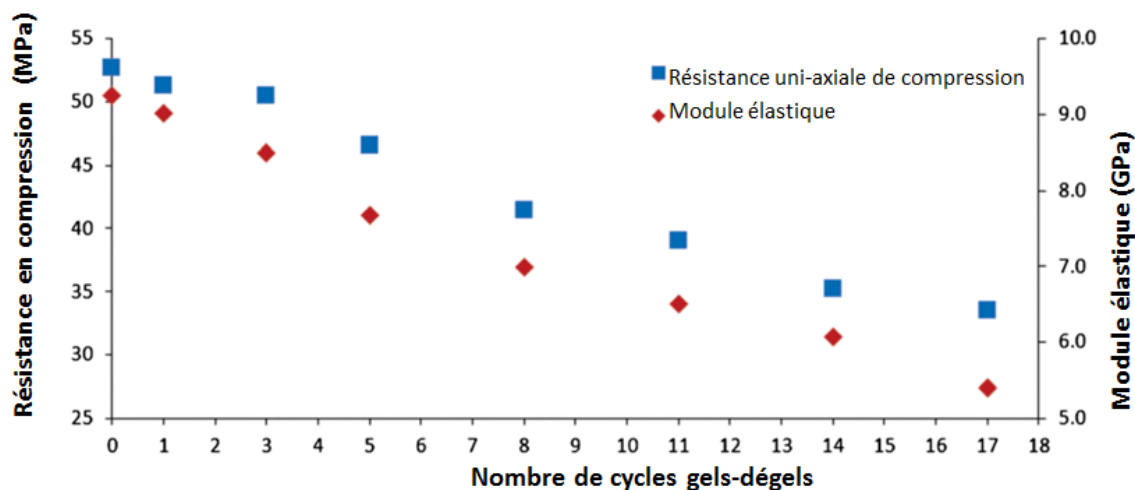


Figure 2.16: Évolution de la résistance en compression simple et du module élastique d'échantillons de grès, tiré de Jia et al. (2015).

On remarque une fois de plus une perte rapide de la résistance des échantillons. Pour le dixième cycle, l'échantillon subit une perte d'environ 23% par rapport au cycle 0. En comparant ces résultats aux travaux de L. Cheng et al. (2013), on remarque que ce grès perd moins de résistance (en pourcentage) que le ciment utilisé, mais que cette perte relative est bien plus importante que pour les échantillons biocalcifiés, en revanche, pour un échantillon biocalcifié tous les pores ne sont pas remplis de calcite et la résistance au cisaillement, résultat de la création de ponts entre les grains, est inférieure à celle d'un grès.

CHAPITRE 3 MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce chapitre présente les différentes démarches utilisées pour aboutir à un protocole de traitement par biocalcification par percolation, ainsi que l'ensemble des essais réalisés. L'élaboration d'un protocole solide permettant de faire des tests représentatifs a été une phase délicate, longue et pleine d'imprévus, la littérature ne permettant pas toujours d'expliquer certains résultats et les différences entre les méthodes de percolation ont jeté un flou sur la marche à suivre. La tâche s'est vue d'autant plus complexe que le protocole désiré se devait d'être apte à être utilisé pour l'industrie (c'est-à-dire proposant une facilité de mise en place, pour un résultat approprié vis-à-vis des objectifs fixés).

3.1 Matériel

3.1.1 Bactérie

La bactérie utilisée est *S. pasteurii*, enregistrée sous la désignation ATCC-11859 auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC), société privée américaine sans but lucratif dont la mission vise l'acquisition, l'authentification, la production, la conservation, le développement et la distribution de micro-organismes pour la recherche dans les sciences de la vie. Les informations concernant ce micro-organisme, son fonctionnement et les raisons de son choix sont décrites dans les parties 2.1.2 et 2.2.2.1.

Les manipulations ont toutes été faites à partir de bactéries fraîches, en culture sur pétris. Les explications présentes plus loin dans le rapport concernent la culture de bactéries via d'autres pétris et non l'étape de réhydratation à partir du lyophilisat fourni par ATCC qui n'a pas été faite dans le cadre de cette recherche.

3.1.2 Milieu de culture

Le milieu de culture propice à la bactérie *S. pasteurii* est un milieu NH₄-YE, c'est-à-dire un milieu riche en ammonium (NH₄) et en extrait de levure (*Yeast Extract*). La fiche ATCC-11859 indique le milieu de culture optimal pour *S. pasteurii* (cf. Tableau 3.1).

Tableau 3.1: Éléments nécessaires pour la réalisation des milieux de culture de *S.pasteurii* (ATCC-11859)

Composant	quantité
Extrait de Levure	20.0 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	10.0 g
1 L de Solution tampon de Tris (121.14 g/mol)	15.75 g
Agar (si nécessaire)	20.0g

Ce tableau de base de réalisation des milieux de culture a été modifié pour correspondre plus efficacement aux besoins et faciliter le passage à l'échelle industrielle, avec les conseils de l'équipe de microbiologie encadrant le projet. L'agar est utilisé en tant que gélifiant : mélangé encore chaud aux autres éléments, son refroidissement dans les boîtes de pétris crée un milieu solide qui sera utilisé par les bactéries dans leur phase de croissance. Toutefois, la concentration n'est donnée qu'à titre indicatif et, s'agissant d'un simple support, il est possible d'utiliser deux fois moins de ce matériel sans perdre en qualité du produit, ni en facilité d'utilisation.

Pour permettre d'atteindre un pH de 9 pour la solution de Tris (le composant de base pour notre culture bactérienne), de l'acide chlorhydrique est utilisé lors du titrage goutte-à-goutte.

Les concentrations du milieu nutritif NH₄-YE sont présentées dans le Tableau 3.1 pour 1L de solution.

Tableau 3.2: Concentration des éléments composants les milieux de cultures pour 1 L de milieu

Élément	Quantités	Origine
Extrait de levure (YE)	20 g	Fisher Bioreagents
Sulfate d'ammonium :	10 g	Fisher Chemical
Tris buffer 0.13M (ph 9)	1L (soit 15.75 g) ¹	Fisher Bioreagents
Acide chlorhydrique	goutte-à-goutte en titrage (une	Fisher Chemical
Agar (pétris)	10 g	Fisher Bioreagents

¹Pour faciliter la réalisation des milieux de culture il convient de convertir en gramme le tampon Tris dont la masse molaire est de 121.14 g/mol. Pour 1 L de solution 15.75 g de Tris sont utilisés.

3.1.3 Solutions de fixation et de cimentation

La composition des éléments des solutions de fixation et de cimentation a varié pendant la recherche d'un protocole optimal satisfaisant nos besoins. Pour simplifier la compréhension, les protocoles les plus importants sont regroupés ici et numérotés. Cette numérotation sera reprise à plusieurs passages dans ce chapitre, par exemple pendant la description des protocoles. Une mention particulière sera faite pour le protocole « optimal », qui sera retenu pour le traitement de la majorité des échantillons soumis à des cycles de gel-dégel.

Les éléments et leur concentrations initiales dans les solutions de fixation et de cimentation ont été extraits des travaux de Ozdogan (2010) et sont synthétisés dans le Tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Éléments de la composition des solutions de traitements bactériens, adapté de Ozdogan, 2010.

Solution	Composants	Quantité	Origine
Milieu Urée ¹ ²	Poudre de bouillon de nutriments « Bacto »	3 g	Oxoid
	Urée (NH ₂ (CO)NH ₂)	20 g	Fischer Bioreagents
	Chlorure d'ammonium	10 g	Acros Organics
	Bicarbonate de sodium	2.12 g	Arm and Hammer
	Eau distillée	1 L	

¹Avant d'être stérilisé en autoclave, le milieu urée doit être ajusté à un pH de 6 avec une quinzaine de gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à 5 normal.

²La numérotation 1 est une aide pour la compréhension de l'évolution de la composition du milieu urée. Le milieu urée 1, extrait des travaux d'Ozdogan, 2010, est une base pour une optimisation spécifique aux objectifs de recherche de ce rapport.

La solution de base selon le protocole établi par Ozdogan (2010) a été optimisée dans le cadre du projet et le Tableau 3.4 présente l'évolution des solutions utilisées au fil des protocoles de percolation. Au total, 14 protocoles ont été testés afin de retenir le plus performant.

L'élaboration des protocoles était une étape semée d'embûche, la littérature étant relativement restreinte sur notre méthode et nos paramètres d'injection. La délicatesse du travail avec des organismes vivants, le souhait de produire un protocole potentiellement industrialisable et le

besoin de mieux comprendre le phénomène de biocalcification ont à la fois conduit chacune des étapes qui seront présentées plus loin et soulevé quelques difficultés.

Par soucis de clarté, les milieux urée 1, 1.5 et 2 sont parfois désigné par urée 1; urée 1.5 et urée 2, respectivement.

Tableau 3.4: Synthèse des solutions utilisées pour un protocole donné

N° protocole	Solution de fixation	Solution de cimentation
1	Milieu urée 1 (cf Tableau 3.2) mélangé avec du CaCl_2 de façon à respecter un rapport équimolaire entre l'urée et le CaCl_2 . ¹	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
2	Solution identique au protocole précédent	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
3	Solution identique au protocole précédent	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
4	Solution identique au protocole précédent	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
5	Solution identique au protocole précédent	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
6	Milieu urée 1.5 : les concentrations du milieu urée 1 sont multipliées par 1.5. (et le rapport molaire avec le CaCl_2 est gardé.	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
7	Milieu urée 1	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
8	Solution identique au protocole précédent	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
9	Deux essais en parallèle sans respecter le rapport équimolaire. L'un avec un milieu urée 2 et la concentration en CaCl_2 du milieu urée 1; l'autre avec une concentration en CaCl_2 doublé et un milieu urée 1.	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.

Tableau 3.5: Synthèse des solutions utilisées pour un protocole donné (suite)

N° protocole	Solution de fixation	Solution de cimentation
10	Milieu urée 2 et rapport équimolaire respecté avec le CaCl_2 .	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
11 ² : optimal	Solution identique au protocole 10	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
12	Milieu urée 1 ajusté à pH 7 au lieu de 6. Rapport équimolaire respecté.	La solution de cimentation est identique à la solution de fixation.
13	Concentré de sels de CaCl_2 à 50 mM.	Milieux urée 2 et rapport équimolaire respecté.

¹ Le CaCl_2 utilisé dans notre cas était di-hydraté donc de formule : $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Pour respecter ce rapport, il faut reprendre les informations concernant la masse des éléments du tableau périodique. $\text{H}_2\text{O} = 18 \text{ g/mol}$; $\text{CaCl}_2 = 110.9 \text{ g/mol}$ et Urée ($\text{NH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$) = 60g/mol. Le rapport massique entre l'urée et le chlorure de calcium est alors de 2.48 :1. Pour chaque gramme d'urée, il faut 2.48g de CaCl_2 .

²Pour ce protocole 11, il n'y a pas eu de modification dans les solutions mais dans la quantité de bactéries utilisées.

3.1.4 Sable de silice

Le matériau granulaire utilisé dans le cadre de la présente étude était un sable d'Ottawa, caractérisé dans le cadre des travaux de Santonja Rey (2013), stagiaire en géotechnique à l'école Polytechnique de Montréal, sous la direction du professeur Courcelles. Les principaux résultats de cette caractérisation sont présentés dans la présente section.

3.1.4.1 Granulométrie

La granulométrie du sol est présentée à la Figure 3.1:

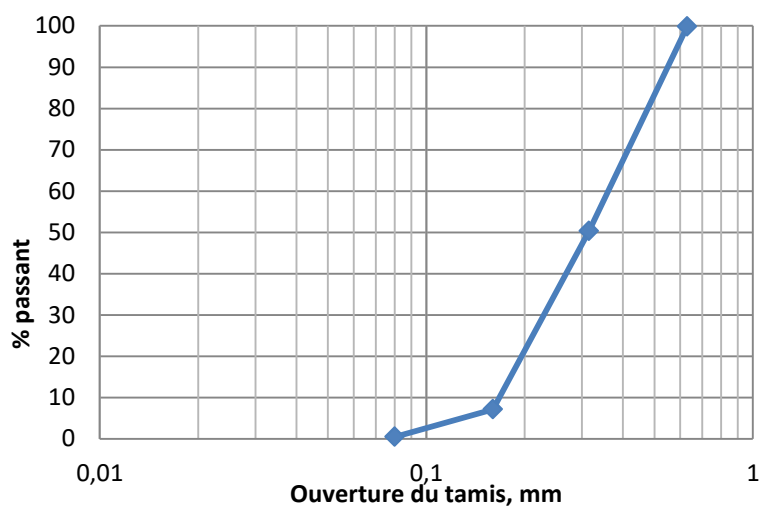


Figure 3.1: Courbe granulométrique du sable de silice utilisé

L'analyse de cette courbe permet de déterminer le coefficient d'uniformité (C_u) et le coefficient de courbure (C_c) en utilisant les formules suivantes :

$$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}};$$

$$C_c = \frac{D_{30}^2}{D_{10} * D_{60}}$$

D_{60} , D_{30} et D_{10} sont le diamètre (mm) du tamis pour 60, 30 et 10 % de passant.

Tableau 3.6: Tableau de résultat d'analyse de la courbe granulométrique

Caractéristique	Valeurs
D_{60}	0.36 mm
D_{30}	0.24 mm
D_{10}	0.17 mm
C_u	2.117
C_c	0.914

Ces informations permettent de déterminer que ce sable est peu étalé, SP selon la classification USCS.

3.1.4.2 Densité relative, densité maximale et minimale

La densité relative calculée pour ce sol est $G_s = 2.644 \text{ g/cm}^3$.

Les densités minimales et maximales sont calculées avec la Norme Nationale du Canada, CAN/BNQ 2501-062/2005. Les résultats sont :

$$\rho_{min} = 1.453 \text{ g/cm}^3$$

$$\rho_{max} = 1.700 \text{ g/cm}^3$$

3.1.5 Support et moules

Pour simuler un environnement réel, les échantillons doivent être placés dans un moule permettant un écoulement libre des liquides injectés. Il ne doit pas y avoir de blocage des différents liquides de traitement en fin de drainage de l'échantillon. Pour ce faire, des manchons de plomberie percés à leur extrémité basse sont fixés sur les moules des échantillons et ensuite placés sur un support constitué essentiellement d'une plaque percée. Pour retenir le sable de l'échantillon dans le moule, un filtre est placé à l'extrémité basse du moule. Dans la majorité des essais, le filtre utilisé était un morceau de tissus suffisamment fin pour retenir l'intégralité du sable.

Un autre montage peut remplacer la plaque percée, et être utilisé pour maintenir les échantillons à la verticale, il s'agit d'un support universel et de pinces, mais, avec un grand nombre d'échantillons, les réglages précis de niveaux sont délicats. Par soucis de facilité et de répétabilité, la plaque a été choisie.

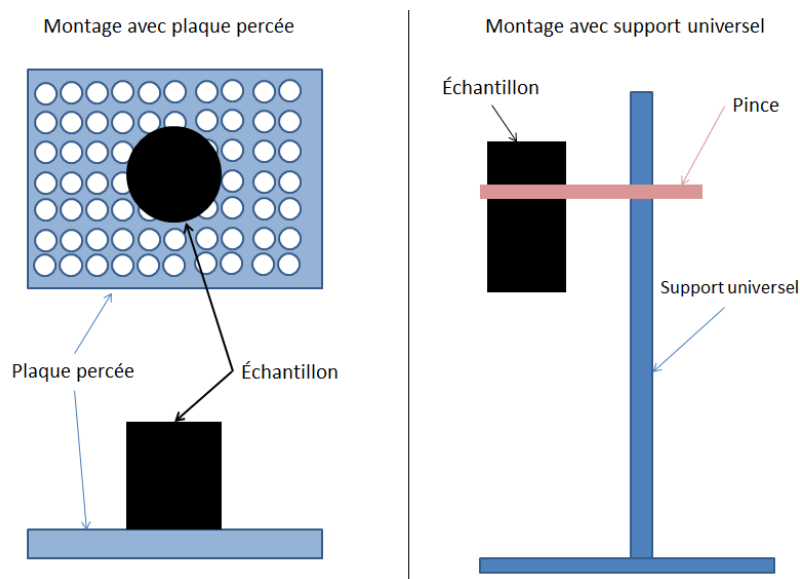


Figure 3.2: Exemple de montages utilisés

Les moules sont des tuyaux d'ABS (acrylonitrile butadiène styrène), d'un diamètre interne de 2 pouces (50.8 mm) et d'une hauteur de 4 pouces (101.6 mm). Ces dimensions sont choisies en considération des essais mécaniques à effectuer (ASTM D-2166), qui sont des essais de compression simple pour lequel la hauteur de l'échantillon doit être entre 2 et 2.5 fois le diamètre. Il s'avère aussi que ces dimensions permettent de multiplier les traitements parallèles, tout en offrant une consommation de ressources assez faible, donc un bon compromis économique.

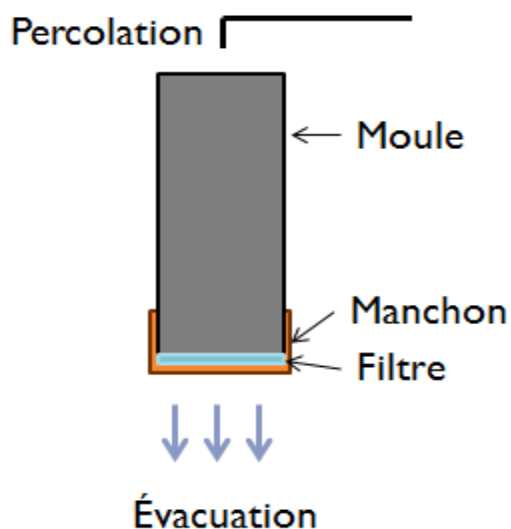


Figure 3.3: Schéma de principe du traitement des échantillons

Initialement, les moules étaient scindés en deux parties et maintenus ensemble par des colliers de serrage. Cependant, plusieurs expériences ont démontré que le démoulage n'était pas aisé et qu'il était alors nécessaire d'exercer une forte pression sur le moule pour dégager l'échantillon, ce qui pouvait l'endommager voire le détruire. Par la suite, le moule de l'échantillon a été scindé en trois parties égales et toujours maintenues par des colliers de serrage (Figure 3.4). Les démoulages avec cette modification étaient bien plus faciles, rapides et moins stressants pour l'échantillon. Pour faciliter la réutilisation du matériel, les parties d'un moule sont identifiées pour pouvoir être reconnues et réassemblées tout en gardant les dimensions initiales.

Ce travail sur le moule modifie le diamètre des échantillons, les mesures montrent que le diamètre moyen devient 50.54 mm, pour environ 0,5 % de perte de diamètre.

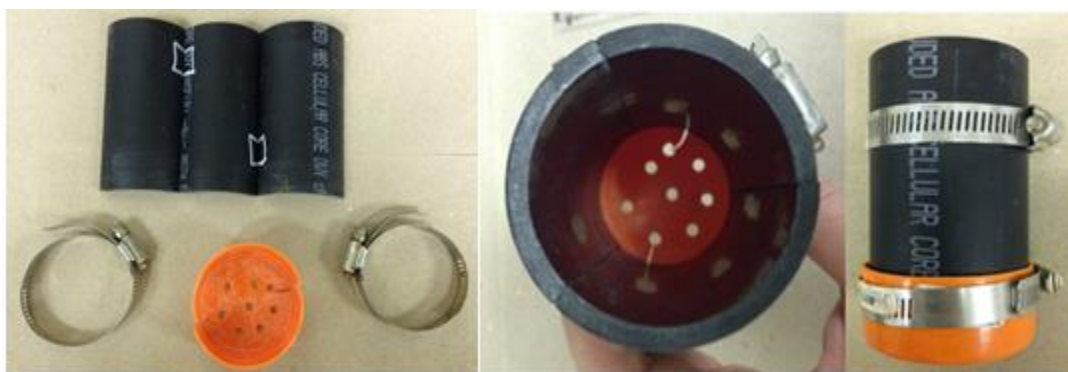


Figure 3.4: Exemple de moule utilisé

3.2 Protocole

3.2.1 Réalisation du milieu de culture et incubation

3.2.1.1 Milieu de culture

Pour réaliser le milieu de culture, il convient de préparer une solution tampon tris à 0.13M à pH 9. Pour ce faire, un tampon tris pulvérulent a été utilisé. La masse molaire de ce tampon tris est de 121.14 g/mol. Pour réaliser un litre de solution 0.13 M, il faut donc prélever 15.75 g de tampon Tris, puis le solubiliser dans 500 ml d'eau distillée, après l'avoir dosé à pH 9 avec de l'acide chlorhydrique lors d'un titrage goutte-à-goutte, puis réajuster le volume à 1 litre dans une fiole jaugée.

Une fois la solution de base prête, il est important de la stériliser pour éviter qu'elle ne soit contaminée. Pour éviter une dégradation des acides aminés essentiels (réaction de Maillard), il faut stériliser séparément les 3 composants une fois solubilisés dans le tampon Tris. Pour cela, elle a été répartie dans trois récipients différents (erlenmeyers), pas forcément en parts égales.

Pour ces manipulations, il est pertinent d'autoclaver un récipient capable de contenir l'ensemble de la solution préparée.

L'extrait de levure et le sulfate d'ammonium peuvent être solubilisé à froid dans le tampon tris. Par contre, l'agar en poudre utilisé n'est pas soluble s'il n'est pas chauffé. Il faut le chauffer tout en le mélangeant, jusqu'à ce que la solution devienne claire. Pour cela, le récipient contenant l'agar et la solution tampon est posé sur une plaque agitatrice chauffante, réglée au maximum pour l'agitation et le chauffage. Pour les expériences décrites, il n'y avait pas de température cible ni de durée déterminée, le seul indicateur utilisé est la clarté de la solution. Cette étape peut être délicate car l'agar chaud est fragile, et si cette solution arrive à ébullition l'ensemble peut subitement déborder. Il est préférable de garder une certaine observation sur l'évolution de la dissolution. Après dissolution, l'agar doit être maintenu chaud (à environ 40 °C), sinon il peut se figer et l'opération est à recommencer.

Une fois les dissolutions effectuées, les erlenmeyers sont bouchés avec de l'ouate et scellés avec de l'aluminium, puis autoclavés à 120°C pendant environ 15-20 min par litre de solution.

Pour faciliter les manipulations et pour éviter que l'agar ne fige pendant la phase d'autoclave, il est possible de démarrer celle-ci à vide, de l'arrêter et de la recommencer avec les solutions une fois prêtes. Pour éviter une fixation de l'agar une fois l'autoclave terminée, un bain chaud peut être utilisé (température minimum à viser d'environ 40°C). Ces deux étapes sont optionnelles.

Quand l'autoclave est terminée, il est nécessaire de préparer le bec benzène et les boîtes de pétris stériles. Après avoir sorti les solutions, les solutions sont ouvertes près du bec benzène allumé et mélangées dans l'erlenmeyer capable d'accueillir tout le volume de solutions. Le bec benzène permet d'éviter une contamination par l'air grâce à sa flamme, cependant il est préférable de rester le plus près possible de ce dernier (environ 20 cm maximum).

Toujours en atmosphère stérile, la solution est versée dans les boîtes de pétris. Lorsque le gel est formé, il est nécessaire de retourner les boîtes de pétris (substrat en haut) pour éviter que la

condensation abîme le substrat ou les bactéries. Enfin, les boîtes sont scellées avec de la paraffine et conservées dans un environnement à 4°C, pour limiter la croissance des bactéries.



Figure 3.5: Exemple de culture et son milieu.

3.2.1.2 Culture et conservation des bactéries

L'ouverture des boîtes de pétris est effectuée en atmosphère stérile. Le prélèvement d'une colonie est réalisé avec une boucle d'inoculation. La colonie est ensuite étalée sur un substrat vierge avec la méthode des cadrans. Cette méthode de répartition de bactéries sur un substrat permet d'isoler des colonies pour les prélever plus facilement ensuite.

Une fois les pétris inoculées, la culture des bactéries se déroule dans un incubateur à 30°C pendant 72h.

Lorsque la culture des bactéries est avancée, les pétris sont installés dans un réfrigérateur à 4°C pour inhiber la croissance et le vieillissement des bactéries, ce qui permet de les conserver pendant environ 1 mois. Si ces dernières étaient laissées à températures ambiante, elles continueraient de vieillir, ce qui va augmenter la quantité de bactéries mortes prélevées pour les manipulations suivantes. Elles peuvent aussi continuer à croître et diminuer l'accessibilité aux nutriments, ce qui contribuerait à accélérer leur mort.

3.2.1.3 Modèle de croissance dans un bouillon

Une autre forme de milieu de culture est celui en bouillon. Le bouillon a la même composition que les pétris, mais sans agar, il reste donc liquide. Ce type de culture s'effectue juste avant l'injection dans le sol.

Environ 10 colonies de bactéries (ou 10 boucles d'inoculation pleines) sont prélevées et déposées directement dans 100 ml de bouillon. Les conditions pour une croissance optimale dans le bouillon sont une température de 30°C et une agitation forte. Les bactéries se multiplient plus rapidement dans un milieu bien agité, donc aéré, alors qu'une agitation trop faible ralentira la croissance.

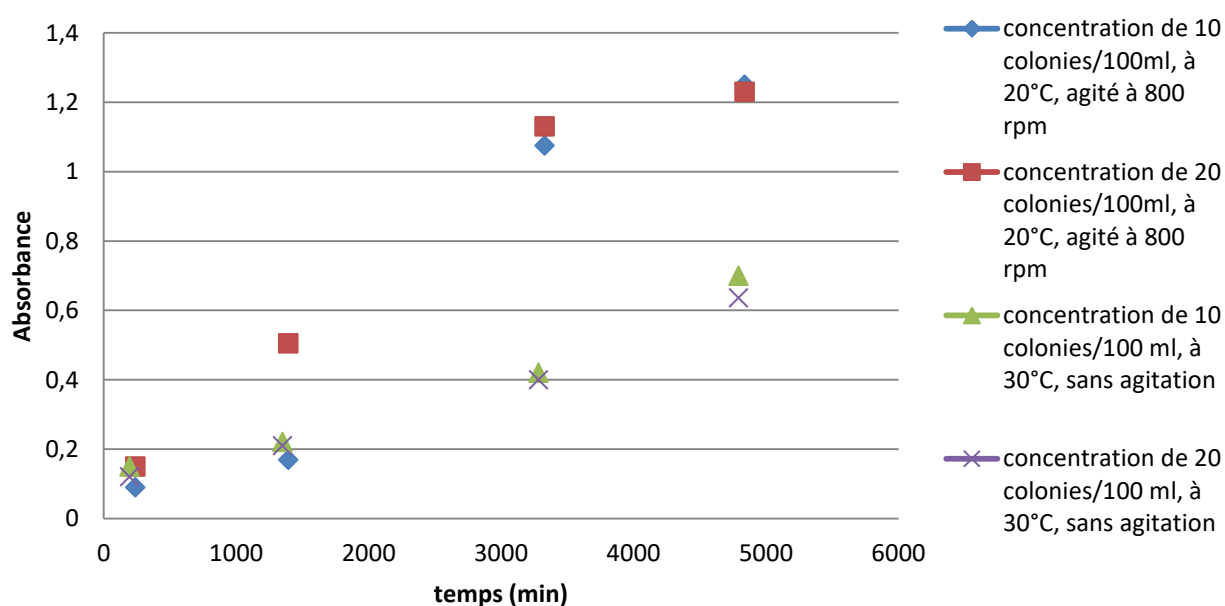


Figure 3.6: Évolution de l'absorbance en fonction du temps pour des cultures bactériennes selon des paramètres de concentration de colonies, de température et d'agitation.

La Figure 3.6 montre des exemples d'évolution de la densité optique (à 600 nm) en fonction du temps pour différents modèles de culture.

L'objectif est de comprendre quels sont les paramètres prédominants pour une culture rapide et efficace en vue de l'optimisation du protocole globale de culture et de traitement de sol.

Les éléments importants de la croissance bactérienne, donc les variables étudiées, sont les suivantes : la concentration des bactéries, la température et l'agitation. Malheureusement, Dans cette expérience, il n'a pas été possible d'effectuer une agitation avec un contrôle précis de la température, comme dans un incubateur, et l'agitation a toujours été réalisée à température ambiante (20°C). L'agitation utilisée pour ces expériences (et pour la suite des tests) est de 800 rpm.

Il est intéressant de noter que la concentration en bactéries initiale n'avait que très peu d'impact sur l'absorbance finale de la solution et ce, peu importe les autres paramètres. L'absorbance semble ainsi indépendante de la concentration initiale en bactérie.

Ces quatre courbes se séparent clairement en deux groupes selon les deux autres paramètres liés: l'agitation et la température. Une meilleure absorbance est obtenue quand la solution est agitée et à 20°C que lorsqu'elle n'est pas agitée et à 30°C, peu importe la concentration initiale. Cette différence est non négligeable puisque, après une période d'environ 80h (4 800 min), une solution agitée à 20°C a une absorbance environ deux fois plus élevée qu'une solution non agitée à 30°C.

Pour expliquer pourquoi la concentration des bactéries ne semble pas être un facteur majeur dans la culture des bactéries, il est envisageable de supposer que la quantité initiale de bactéries est négligeable devant celle qui est atteinte en fin de culture. Ainsi, la vitesse de croissance et de multiplication des bactéries dans un bouillon, agité ou non, à 30°C ou non, est telle que deux solutions de concentrations initiales différentes peuvent atteindre une absorbance similaire après une certaine durée de culture en bouillon.

Avec cette expérience et ces considérations, il semble que l'agitation soit un facteur plus important pour l'optimisation de croissance des bactéries que ne l'est la température.

La courbe suit une tendance exponentielle et on remarque le début du ralentissement de croissance autour de 60h (3 600 min) pour les échantillons agités. Pour cette durée de culture, le ralentissement ne semble pas encore être atteint pour les échantillons sans agitation à 30°C. Il est aussi notable que la différence d'absorbance entre les deux jeux de solutions diminue une fois le palier atteint par les échantillons agités. Il peut être envisageable que, avec un temps plus long, les échantillons non-agités à 30°C atteignent une absorbance équivalente aux échantillons agités.

Il n'est pas souhaitable d'utiliser des bactéries ayant atteint leur phase de plateau de croissance, car elles ne sont plus aussi actives que lorsqu'elles sont prélevées pendant la phase exponentielle de croissance, c'est-à-dire juste avant ce palier (Girinski, 2009; Ozdogan, 2010).

Ces essais ne présentent pas de culture à 20°C et sans agitation, car il est vraisemblable que la croissance soit plus lente que chacun des essais étudiés de la Figure 3.6.

Ces résultats permettent de déterminer une durée optimale de culture des bactéries de 60h +/- 5h avant l'injection dans les sols.

Après la croissance en bouillon, les bactéries sont centrifugées à 5 000 tours/minute pendant 15 minutes pour en extraire les pastilles de bactéries et les mélanger ensuite à la solution bactérienne. Si besoin est, il est possible de modifier la concentration en bactéries à ce moment. Si l'absorbance souhaitée est de 2 mais que celle obtenue est de 1, il est alors possible d'utiliser deux pastilles au lieu d'une.

3.2.2 Synthèse des différents traitements effectués et résultats préliminaires

3.2.2.1 Calcul de l'indice des vides

Le sol est déposé avec le même procédé pour tous les échantillons. À l'aide d'un entonnoir, le sol est déposé dans le moule puis arasé avec une lame après remplissage du moule à ras-bord.

Cette méthode permet d'avoir un indice des vides le plus grand possible, donc un sol peu résistant, ce qui permet de voir rapidement l'impact de la biocalcification. Les mesures de poids et de volume du moule permettent alors de déterminer la densité du sol. Si le sol est compacté avant le traitement, la résistance finale sera probablement plus grande, mais il serait plus délicat de comprendre l'importance des ponts de carbonate de calcium dans le matériau.

Avant le traitement des sols, il est important de calculer le volume à injecter, et donc l'indice des vides. Pour cela, nous utilisons la densité du sable $\rho_s = 2\,644\text{ kg/m}^3$, que nous comparons avec la masse volumique de l'échantillon ρ_e :

$$\rho_e = \frac{\text{Masse}_{\text{échantillon}}}{\text{Volume}_{\text{échantillon}}} = \frac{\text{Masse totale} - \text{Masse moule}}{\text{Volume}} \quad (3-0)$$

La masse totale est la masse du moule et du sable.

L'indice des vides sera alors :

$$\text{Indices des vides } (e) = \frac{V_v}{V_s} = \frac{\frac{V_t - V_s}{M_s} - \frac{V_s}{M_s}}{\frac{V_s}{M_s}} = \frac{\frac{1}{\rho_d} - 1}{\frac{1}{\rho_s}} = \frac{\rho_s}{\rho_d} - 1 = \frac{\text{Masse volumique du sable}}{\text{Masse volumique sèche}} - 1 \quad (3-1)$$

Avec V_t le volume total, V_s le volume de solides (grains), V_v le volume des vides et M_s la masse des grains.

Enfin, le volume des vides est calculé selon l'équation (3-1) afin de déterminer le volume de solution à injecter pour atteindre la saturation recherchée.

$$V_v = e * V_s = e * \frac{M_s}{\rho_s}$$

3.2.2.2 Choix de la taille du moule

Les premiers essais ont été faits sur des échantillons de 4 pouces (environ 10 cm) de diamètre sur 4 pouces de hauteur. Cependant, les essais demandaient des ajustements de manipulation constants et semblaient être surdimensionnés par rapport à l'objectif visé. Pour garantir une certaine fiabilité des essais de compressions simple avec des ratios de 2 de hauteur pour 1 de diamètre, la taille de ce dernier a ensuite été réduite à 2 pouces (environ 5 cm) sans modifier la hauteur, ce qui a allégé le traitement.

3.2.2.3 Saturation des échantillons

L'un des axes directeurs de cette recherche est d'observer et de réaliser une biocalcification en milieu non-saturé comme pourrait l'être la partie superficielle des sols. Comme expliqué dans la revue de littérature, une injection équivalente à un degré de saturation d'environ 70% est visée pendant la fixation des bactéries. Dans les expérimentations effectuées, les bactéries sont mises en œuvre avec 35 % de saturation et la solution de fixation qui suit complète la saturation des 35% manquants.

Dans la réalité des expériences, la saturation n'est pas uniforme dans l'échantillon. Sous l'effet de la gravité, la solution de fixation peut s'accumuler dans la partie inférieure de l'échantillon. Cependant, au fur et à mesure des manipulations, il n'y a pas eu d'observation de drainage de cette solution avant l'injection de la solution de cimentation. Il est envisageable de supposer que la saturation globale de l'échantillon reste aux environs de 70% (sans considérer l'évaporation), sans plus de précision quant à la localisation de l'eau interstitielle à l'intérieur de l'échantillon.

3.2.2.4 Description des protocoles préliminaires et évolution du protocole

Le tableau suivant présente les différences entre un protocole et le protocole précédent. Le protocole 1, le protocole de base, n'est pas décrit plus en détail dans ce tableau, mais l'est dans la suite du texte. Chaque protocole sera détaillé dans la présente section en présentant, de manière

systématique, (a) une brève description, (b) les résultats obtenus et (c) une courte conclusion relative à l'amélioration proposée.

Tableau 3.7: Évolution du protocole et modifications protocole par protocole

Protocole	Modifications
1	Protocole de base
2	Mélange de la solution bactérienne et de la solution de fixation avant injection dans le sol
3	Urée légèrement chauffée avant mélange avec CaCl_2 , mélange de la solution bactérienne et du sol à la main
4	Protocole identique au 2, sauf température de l'urée.
5	Utilisation d'un milieu urée 1.5
6	Similaire au protocole 3, excepté les variations liées à l'absorbance
7	Moule de 2 po de diamètre, milieu urée 1
8	Temps de culture des bactéries en bouillon de 65h au lieu de 19h
9	Tests sur les variations de concentration de certains composants
10	Mise en place du sol revue et optimisée. Tests sur le nombre de cycles de cimentations optimaux. Augmentation du volume de liquide de cimentation (au moins 100 % du volume de vide). Utilisation d'un milieu urée 2. Débit d'injection de 120 ml/h.
11	5 cycles de cimentation
12	Préparation du milieu urée à pH=7. Augmentation du débit à 360 ml/h. Test d'optimisation des ressources utilisées.
13	Débit d'injection à 120 ml/h; 1 injection de bactérie supplémentaires; modification de la solution de fixation utilisée.
14	Identique au protocole 11 sauf : pas de temps de cure entre les injections de cimentation. Essais avec un volume de cimentation de 300ml et de 1L.

Premier protocole (protocole de base)

(a) Description du protocole

Les premiers essais ont été menés avec un échantillon de 4 po de diamètre et autant de hauteur, la solution bactérienne (urée et bactéries) est injectée à 220 ml/h par un tuyau qui doit être déplacé de façon régulière pour maximiser l'homogénéité de l'échantillon. Ainsi, une injection comprend 9 points de percolation, un au centre et 8 autres autour.



Figure 3.7: Exemple de moule pour le protocole 1, 4 pouces de diamètre et 9 points d'injection.

L'absorbance à 600 nm du bouillon de bactéries est de 1.275 et l'urée a un pH de 8.4 avant d'être mélangée avec les bactéries ou le chlorure de calcium.

Pour 200 ml de solution bactérienne, il faut changer l'emplacement du tuyau d'injection toutes les 6 minutes. Ensuite, pour l'injection de la solution de fixation, soit 200 ml de solution d'urée et de chlorure de calcium mélangé avec 1:1 de ratio molaire.

Après cette installation des bactéries et pour laisser la fixation se mettre en place, un temps d'attente de 24 h est observé avant d'entamer une injection de cimentation. La solution de cimentation est identique à la solution de fixation, 400 ml déversés par percolation à travers l'échantillon et un nouveau temps d'attente de 24 h est respecté avant de démouler l'échantillon.

(b) Observation des résultats

Ce premier protocole ne produit qu'une calcification très partielle (cf Figure 3.8), seule la zone supérieure de percolation est solidifiée, le reste ne présente aucune cohésion. La calcification atteint à peine quelques centimètres.



Figure 3.8: Résultats du premier protocole de biocalcification

(c) Conclusion

La calcification n'ayant eu lieu qu'aux points « d'injection », il a été possible d'émettre deux hypothèses : soit il y a eu un effet de colmatage, dû au débit relativement lent, comme on peut le voir lors d'une biocalcification par la méthode par injection, soit, les blocs résultant de ce protocole étant plutôt friables, les bactéries ont été « lessivées ». Ce terme ne semble pas tout à fait juste, il est plus probable que les bactéries n'aient simplement pas pu se fixer dans l'échantillon ailleurs qu'au point d'injection. L'hypothèse du lessivage est suivie pour la réalisation du deuxième protocole.

Deuxième protocole

Pour améliorer cette fixation, un second protocole reprend exactement le premier, à la différence que la solution bactérienne et la solution de fixation sont mélangées ensemble avant injection.

(a) Description du protocole

Dès que la solution bactérienne (urée et bactéries) et la solution de fixation (urée et CaCl_2) sont mélangées, il y a une réaction. La solution contient un élément blanchâtre, épais, vraisemblablement du carbonate de calcium. Cette formation du carbonate de calcium, ou au moins une partie, se produit instantanément.

(b) Observation des résultats

Le résultat de cette expérience montre que les bactéries ont eu le temps de générer un environnement propice à la calcification avant d'être mélangée au second réactif. Ainsi, avec des concentrations de CaCl_2 très importantes, il y a eu une précipitation dès le contact.

Le pH de l'urée utilisée est de 8.67, le pH de la solution blanchâtre obtenue est de 8.23. La diminution du pH suit la réaction chimique (expliquée dans la revue de littérature) et le pH reste propice pour les bactéries.

Après la percolation, 25 ml de liquide ont été récupérés. Le pH mesuré de 7.83 peut indiquer que la réaction chimique se poursuit bien dans l'échantillon.

72h après la dernière injection, le moule est retiré, il n'y a aucune trace de calcification. On peut supposer que la majeure partie de la calcification a eu lieu dans le contenant avant la percolation, puis la réaction s'est poursuivie dans l'échantillon, sans pour autant fixer le carbonate de calcium entre les grains, car ce dernier était déjà formé.



Figure 3.9 : Résultat du protocole 2.

(c) Conclusion

Il est très important de noter que pour les expériences qui vont suivre, il a été omis de mesurer l'absorbance avant injection, cette variable n'avait pas été considérée à sa juste valeur. De ce fait, nombre d'essais et d'échantillons ont été gâchés et certains résultats sont difficilement interprétables. Cependant, les hypothèses et essais menés ont quand même permis de soulever des questionnements et des pistes de solution qui ont tous ensemble amenés au protocole optimal décrit dans la partie suivante.

Les différences qui s'observent sont dues au changement de matériel pour l'agitation. Les premiers protocoles sont faits grâce à une table d'agitation et les suivants avec un agitateur magnétique.

Troisième et quatrième protocole

(a) Description du protocole

Pour favoriser l'homogénéité possible dans l'échantillon, une nouvelle procédure de mise en œuvre des bactéries est utilisée : ces dernières seront mélangées à la main avec le sable sec puis l'ensemble est réintroduit dans le moule. Pour permettre une comparaison pertinente, un échantillon est percolé de façon identique au protocole n°2, cependant, le manque de mesure de l'absorbance et la modification de la température de l'urée (cf plus bas) dégagent suffisamment de différence pour valoir un nouveau protocole, le protocole 4.

Pour mettre en place le sable mélangé à la main dans le moule, il a fallu tasser un peu, et donc il y a eu une légère compaction.

Pour le mélange d'urée et de CaCl_2 , l'urée était légèrement chaude et le CaCl_2 s'est presque complètement dissout, précipité blanc très diffus dans la solution d'injection.

(b) Observation des résultats

On note ainsi que la température à laquelle le mélange urée et CaCl_2 se fait est important, il faut garder une température relativement élevée pour permettre un mélange plus rapide du CaCl_2 .

Après 4 jours de traitement, il n'y a pas eu de calcification notable à part au centre de l'échantillon percolé.

(c) Conclusion

Ces résultats peuvent indiquer soit que l'environnement créé par les bactéries a une durée de vie assez courte, soit que les bactéries se sont bien dispersées, mais il n'y avait pas assez de CaCl_2 pour avoir une calcification satisfaisante, soit encore que les bactéries ne se sont pas du tout accrochées au sol et ont été lessivées pendant la cimentation.

Cinquième et sixième protocole

(a) Description du protocole

Pour vérifier les hypothèses une autre séquence d'essais est utilisée avec deux échantillons en parallèle, toujours avec un mélange manuel du sable et des bactéries. Pour l'un des échantillons,

la concentration en urée et CaCl_2 sera augmentée (1.5 fois les concentrations du milieu urée 1), pour l'autre échantillon le protocole 3 sera repris.

En se basant une nouvelle fois sur le premier protocole, pour la première partie du traitement (la fixation) : percoler/malaxer 100 mL de bactéries et injecter juste après 100 mL d'urée CaCl_2 (4.5g).

Pour permettre la fixation, attendre 24 heures avant d'entamer la cimentation : percoler 200 mL d'urée et de CaCl_2 , respecter un délai de 24H et injecter de nouveau 200 mL.

Des tests de pH des solutions excédentaires sont relevés.

(b) Observation des résultats

Après les premières 24 heures, pas de résistance notable avec une évaluation du doigt (en accord avec les observations des protocoles précédents).

L'injection des 200 mL d'urée et de 9.5 g de CaCl_2 a été drainée. Le liquide ainsi obtenu a un pH de 8.62 pour l'urée classique et de 8.9 pour l'urée à 1.5 de concentration. Ces valeurs de pH sont légèrement supérieures aux valeurs les plus propices pour les bactéries utilisées (8-8.5).

24 heures après, cette solution excédentaire possède un pH identique et un précipité blanc au fond (vraisemblablement du carbonate de calcium). Comme il n'y a pas eu de changement de pH on peut supposer qu'il n'y avait pas de réaction de précipitation pendant ces 24h, donc pas de bactéries dans le liquide drainé, il n'y a donc pas eu de lessivage pendant la première cimentation et ce précipité blanc au fond s'explique par une sédimentation lente.

Enfin, injection finale de 200 ml d'urée et 9.5 g de CaCl_2 . Les solutions excédentaires ont un volume de 150 mL, pour le milieu urée 1, le pH est de 8.86, pour le milieu urée 1.5, le pH est à 8.22. Le pH de la solution avec une urée 1 est plus élevé pour cette injection que pour la précédente ce qui semble indiquer que la réaction arrive à son terme. En revanche, pour l'urée 1.5, il semble que la réaction continue de se produire.

Après séchage pendant 10 jours, les moules ont été enlevés. L'échantillon d'urée 1 (image de droite Figure 3.10) a tenu facilement, celui avec l'urée 1.5 (image de gauche) s'est brisé pendant l'ouverture suite à une mauvaise manipulation (trop brutale).

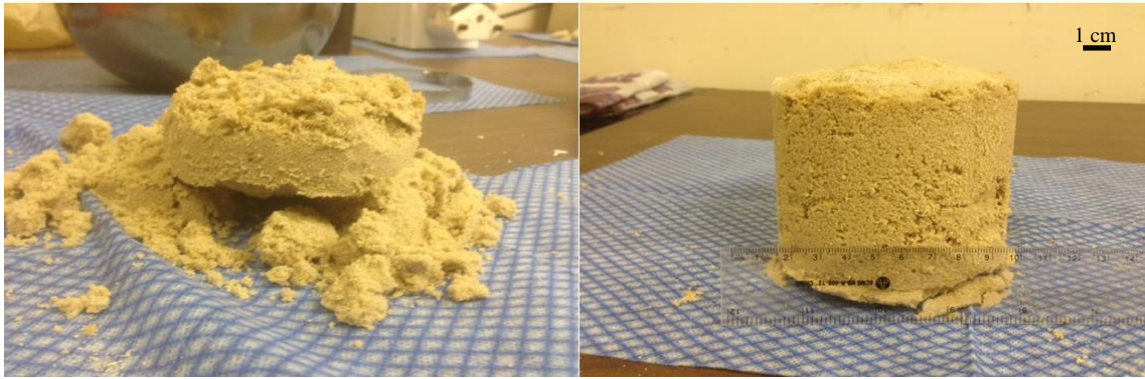


Figure 3.10 : Résultat avec un échantillon de 4 po par 4 po, mélange des bactéries et quantité de liquide de cimentation percolé diminuée.

(c) Conclusion

Le protocole semble maintenant permettre d'obtenir un échantillon d'un seul bloc. Il est choisi de continuer les essais avec les moules qui seront utilisés pour la compression simple.

Septième protocole

(a) Description du protocole

Le protocole 7 est sensiblement identique au précédent (6) à l'exception que les moules sont à présent de 2 po de diamètre.

(b) Observation des résultats

L'échantillon obtenu est bien calcifié, il peut être pris à la main sans se briser. Avant d'être soumis à un essai de compression simple l'échantillon est d'abord taillé pour avoir des surfaces planes en haut et en bas.

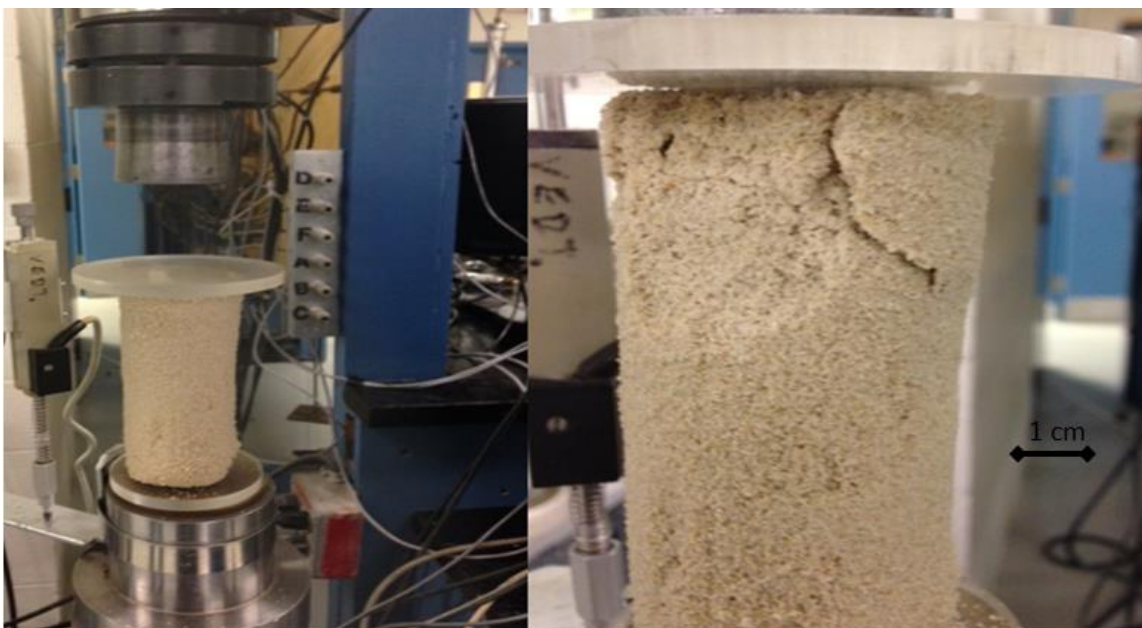


Figure 3.11 : Exemple d'échantillon obtenu après le protocole n°7.

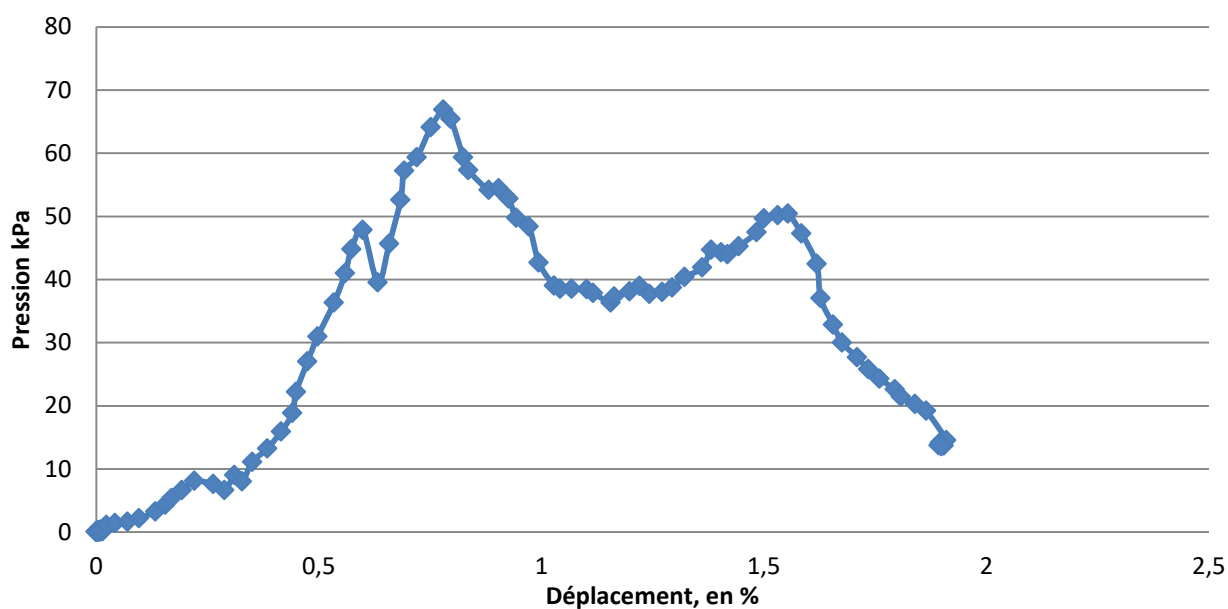


Figure 3.12 : Exemple de graphique résultant d'un essai de compression simple pour un échantillon conçu avec le protocole 7, le pourcentage de carbonate de calcium est autour de 3%.

Ce graphe présente une courbe en dents de scie un peu inhabituelle. Il peut être noté 3 « pics » de résistance. Chacun de ces pics semblent indiquer une répartition non-homogène du carbonate de calcium. Effectivement, les bords supérieurs de l'échantillon semblent moins résistant que le centre de la surface supérieure (c'est à cet endroit que la percolation débute). Ainsi, ces pics

pourraient correspondre à différentes zones où les contraintes sont reprises avant la destruction totale de l'échantillon. Le premier pic (0.57 mm|45 kPa) correspondrait à la résistance des bords supérieurs.

(c) Conclusion

Ce protocole semble être très près de l'objectif souhaité, mais l'échantillon manque encore de résistance pour être manipulé aisément. Il est choisi d'augmenter sa résistance avec l'utilisation de plus de bactéries, plus active.

Remarque :

C'est principalement après ce protocole que les difficultés sont apparues. Pour améliorer la précipitation, un temps plus long est laissé à la croissance des bactéries en bouillon, pour compenser la température relativement faible (20°C) pendant ces cultures.

Huitième protocole

(a) Description du protocole

Identique au septième sauf pour le temps de culture des bactéries en bouillon avant injection qui passe maintenant à 65 heures au lieu de 19h, supposément pour améliorer la précipitation.

(b) Observation des résultats

Les échantillons ainsi traités n'ont pas de résistance particulière, ils se brisent pendant le démoulage et les morceaux récupérés se cassent facilement avec les doigts, ils présentent une forte friabilité.



Figure 3.13: Résultats protocole 8

(c) Conclusion

L'effet de « couches » visible sur les bris d'échantillons est probablement dû à la mise en place. À cette étape de l'élaboration du protocole, le sable, une fois mis dans le moule est déposé puis compacté légèrement par couches, ce qui semble se retrouver après coup au démoulage.

L'hypothèse émise est que comme il y a « plus » de bactéries, un manque de ressources pour la précipitation se fait sentir, donc qu'il semble y avoir un effet inhibiteur de la réaction. Cependant, cette hypothèse n'a pu être vérifiée, par manque de mesure d'absorbance.

Neuvième protocole

(a) Description du protocole

Pour retrouver une précipitation conséquente dans les échantillons traités, la concentration du milieu urée ainsi que celle de CaCl_2 ont été modifiées.

(b) Observation des résultats

Augmenter seulement la concentration en urée montre une légère amélioration de la cohésion. Augmenter l'urée et la concentration en calcium montre une bonne amélioration, au touché.

(c) Conclusion

Bien que l'hypothèse initiale d'inhibition de la réaction soit au finale incorrecte, les résultats obtenus (seulement par évaluation manuelle) semblent indiquer qu'une augmentation de la concentration des ressources favorise la précipitation.

Dixième protocole

(a) Description du protocole

Ce protocole, n°10, revoit la mise en place du « sol bactérien », cette fois un autre moule sera temporairement fixé au-dessus du moule cible pour accueillir l'intégralité du sol bactérien. Ensuite, de légers tapotements sur la table (environ 5) permettent de compacter le sol pour qu'il remplisse complètement le moule cible. C'est la façon « optimale » trouvée qui sera utilisée par la suite. Toujours dans un but d'optimisation, le volume de liquide de cimentation est augmenté (de 70% du volume des vides à environ 110%). Enfin, l'injection est ralentie pour donner plus de temps de réaction entre chaque « goutte » de liquide, et diminuer le lessivage, le débit est alors 120 ml/h. Puis, le nombre de jours d'injection est testé en parallèle (3 jours et 5 jours).

(b) Observation des résultats

Les échantillons forment des blocs solides, pas de couches. Peuvent être manipulés facilement. L'eau ne fait pas perdre la cohésion ainsi obtenue du sol.

3 cycles : Après compression simple, les blocs restant peuvent facilement être cassés à la main (l'échantillon se brise complètement, fente au milieu à l'ouverture,...). Un essai de compression simple permet d'obtenir une résistance de l'ordre de 66kPa (surestimé à cause de la surface de contact pas parfaitement plane dû à des difficultés de taillage). L'angle de frottement est estimé, visuellement, à 20°.

L'un des échantillons s'est brisé (un bloc du haut s'est détaché) suite au démoulage. Ce même échantillon a été soumis à un cycle gel dégel mais il s'est complètement brisé pendant le taillage et la mise en place. Après le gel, l'échantillon présentait des fissures dans sa partie supérieure, le reste de l'échantillon ne se déforme pas avec une pression légère des doigts.

5 cycles : Impossible de briser le gros bloc après compression (bloc du bas, seul le haut semble s'être brisé pendant l'essai). Un essai de compression simple permet de mesurer une résistance de

48 kPa (surface est plus plane que pour l'échantillon à 3 cycle car il se taillait beaucoup mieux). L'angle de frottement est évalué visuellement à 30° .

Un échantillon a été soumis à un cycle de gel-dégel, puis à une compression simple. La pression maximale mesurée est légèrement supérieure à 50 kPa. Il semble que l'effet d'un seul cycle gel-dégel ne perturbe pas l'échantillon. Après ce cycle, seul une petite fissure sur la partie supérieure de l'échantillon était observable, juste en dessous de la surface. Une fois de plus, le bloc du bas, non-affecté par le test de compression, semble très résistant, il n'a pas été possible de le briser à la main.

Les démoulages des échantillons montrent que le col semble être plus fragile avec 3 cycles (à gauche Figure 3.14) que 5 (plus de cassures, alors que tous les échantillons à 5 cycles sont impeccables).

La surface supérieure semble être la partie la plus sensible des échantillons à 5 cycles (à droite Figure 3.14) de cimentation. Il est probable que ce résultat soit dû à une dispersion moindre des liquides injectés ce qui entraîne une précipitation locale plus faible.



Figure 3.14: Exemple d'échantillon résultant du dixième protocole.

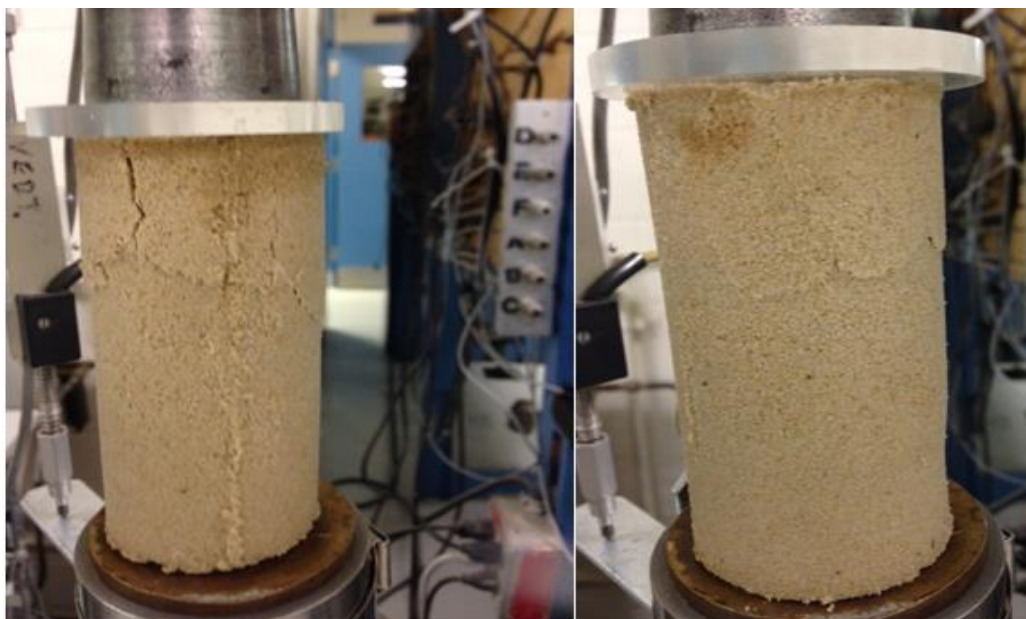


Figure 3.15: Exemple d'échantillons résultant du dixième protocole et soumis à un test de compression simple.

(c) Conclusion

Ce protocole reprend l'espoir du protocole 7. C'est aussi à cette étape que les problèmes d'absorbance sont soulevés et réglés, le prochain protocole est alors supposé être le bon, ce qui s'avère être le cas.

3.2.3 Description du protocole « optimal »

Le protocole suivant est jugé optimal car c'est celui qui a délivré les résultats les plus prometteurs, et aux vues du nombre d'échantillons traités, il semble être correctement reproductible.

Il se démarque du protocole 10 par sa mesure de l'absorbance d'environ 2.5, qui peut servir de cible pour réitérer ce protocole.

Pour ce protocole, le milieu urée utilisé est le 2 avec la composition suivante :

Tableau 3.8: Composition du milieu urée 2

Solution	Composants	Quantité
Milieu Urée 2	Poudre de bouillon de nutriments « Bacto »	6 g
	Urée ($\text{NH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$)	40 g
	Chlorure d'ammonium (NH_4Cl)	20 g
	Bicarbonate de sodium (NaHCO_3)	4.24 g
	Eau distillée	1 L

Les pastilles récupérées après la centrifugation sont mélangées avec un volume d'urée 2 équivalent à celui d'une saturation de l'échantillon de 35% pour ensuite être mélanger au sol à traiter jusqu'à homogénéité de la couleur et texture du sol.

Ce sol préparé est ensuite installé dans un moule. Pour ce faire, la méthode conseillée est de fixer temporairement un autre moule au-dessus, de verser l'ensemble du sol préparé, et de frapper d'environ 5 coups le moule sur la table avant d'enlever la rallonge puis de tasser légèrement la surface supérieure du moule avec une autre surface plane pour avoir un échantillon bien formé, ce qui permet de réintroduire l'ensemble du sable. Il est aussi important de ne pas en faire trop pour éviter que le sol ne remplisse plus assez le moule.

Ensuite, un volume identique de solution de fixation est préparé (milieu urée 2 et CaCl_2 à 96g/L) et une fois le moule posé sur son support faire percolé la solution de fixation avec un débit de 120 ml/h au milieu de l'échantillon. Pour minimiser la déformation subséquente à la chute répétée des gouttes d'eau il est pertinent de placer le tuyau d'alimentation le plus près possible de l'échantillon.

S'ensuit 24 heures de temps de cure avant le démarrage des cycles de cimentation qui se résument à une injection d'un volume, entre 100% et 150% du volume des vides de l'échantillon, au même débit de 120 ml/h de la solution de cimentation (composition identique à la solution de fixation) et d'un autre temps de cure de 24 heures. Ce cycle de cimentation (incluant la cure) est à répéter 5 fois.

Une fois le traitement complété et quand le contenant contenant le liquide de sortie est séché à l'air libre, il a été remarqué la précipitation d'un cristal (voir figure suivante). Ce cristal, de forme cubique, se dissout très bien dans l'eau et ne ressemble pas à la calcite précipitée (cf Essai sans sol, un peu plus loin). Au regard des réactions, il est envisageable que ce cristal soit du sel car les

éléments Na et Cl, présent en quantité, ne sont pas exploités par la réaction et peuvent se retrouver dans l'exsudat



Figure 3.16: Cristal précipité dans le récipient du liquide de sortie de traitement après quelques jours de séchage à l'air libre.

3.2.4 Pistes d'optimisation encore possibles

3.2.4.1 Douzième protocole

(a) Description du protocole

Pour rendre plus efficace le protocole 11, des modifications sur les quantités de bactéries injectées, les concentrations utilisées, le pH de l'urée et la vitesse d'injection sont étudiées.

En ce qui concerne ce dernier point, le matériel, la pompe et les tuyaux, disponible pour effectuer cette manipulation ne permettait pas d'avoir un débit d'injection à 120 ml/h mais à 360 ml/h, soit trois fois plus élevé.

Par soucis de comparaison, l'un des échantillons garde un protocole sensiblement similaire au protocole 11, à part le débit bien sûr, et l'absorbance, qui descend à 2 ou 1 au lieu de 2.5.

(b) Observation des résultats

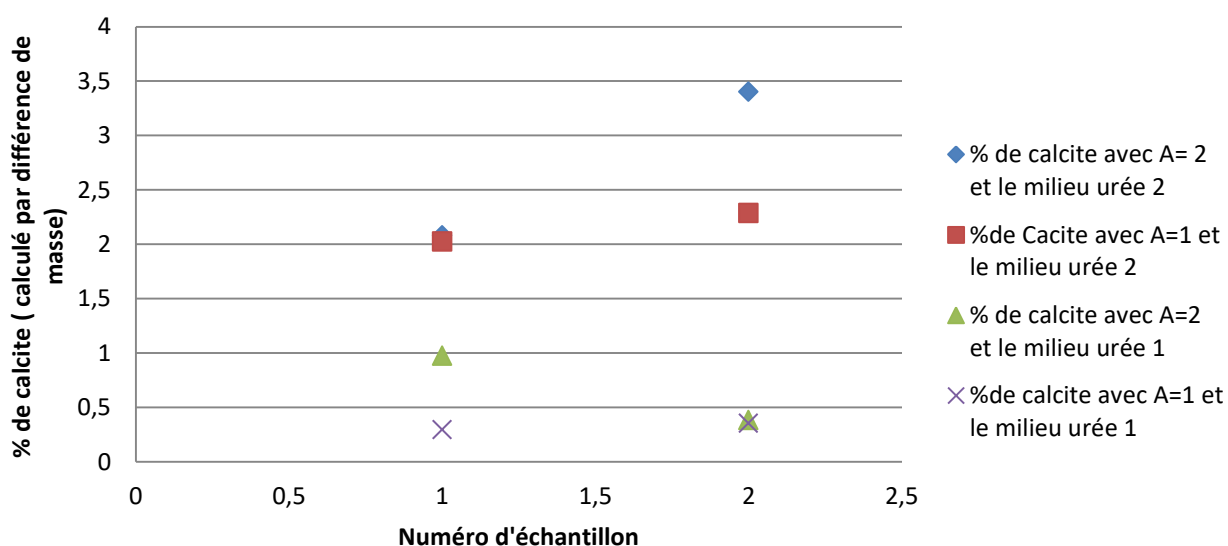


Figure 3.17: Quantité de carbonate de calcium, en pourcentage, calculé par différence de masse, en fonction de l'absorbance et de la concentration d'urée

On remarque que les pourcentages de calcite atteints ne sont pas proches de ceux obtenus au protocole 11. Ce manque de carbonate de calcium dans le sol peut s'expliquer par l'augmentation du débit, qui a radicalement diminué la capacité de fixation des bactéries entre les grains et entraîner une augmentation de masse faible. Cette supposition se raccorde avec l'observation de particules blanche retrouvé dans l'exsudat du traitement après le premier cycle de cimentation. Il semble que presque tout le cristal ait été lessivé après cette cimentation.

Sans surprise, les échantillons n'ont montré aucune résistance particulière, la plupart se brisant au cours du démoulage ou du taillage. Un seul a pu être testé, un échantillon soumis à un milieu Urée 2 et une quantité de bactérie équivalent à une absorption de 2, présentant une augmentation de masse après traitement de l'ordre de 2%. Ce point est le plus haut représenté dans le graphe ci-dessus. La résistance mesurée de cet échantillon était de seulement 31.1 kPa

(c) Conclusion

Les résultats de ce protocole nous montrent que le débit d'injection est un paramètre important du traitement et qu'un débit trop rapide ne permet pas d'atteindre une optimisation. Le graphe des résultats nous présente aussi qu'il semble y avoir peu de différence dans l'efficacité du traitement (en terme de % d'augmentation de masse) entre une absorbance de 1 ou de 2. Cependant, ces

résultats sont faibles et le débit d'injection trop bas peut éventuellement fausser l'appréciation des mesures.

3.2.4.2 Treizième protocole

(a) Description du protocole

Ce protocole, toujours avec une vision d'optimisation, reprend des éléments vus dans la littérature, particulièrement concernant de multiples injections de bactéries.

Ce protocole reprend le protocole 11 avec les deux modifications majeures suivantes : il y aura une autre injection de bactéries après deux cycles de cimentation; la solution de fixation est un mélange d'eau distillée et de CaCl_2 à 50 mM, tout comme la solution bactérienne, selon les recommandations d'Harkes et al. (2010).

(b) Observation des résultats

Les premières observations concernant le comportement des bactéries est leur regroupement en agrégat dès leur dépôt dans le milieu riche en sel. Les bactéries ont formé un amas et leur mélange à la main avec le sol a pu se faire, mais dû à ce phénomène, l'homogénéité serait potentiellement à remettre en question. Pendant la deuxième injection de bactéries, le phénomène se reproduit, cette fois, les bactéries étant percolées dans le sol, on retrouve l'amas au-dessus du sol.

L'injection de solution de cimentation ne pose aucun problème particulier mais les échantillons, ne présentaient aucune résistance en fin de traitement.

(d) Conclusion

Comme il devient délicat d'obtenir de meilleurs résultats que ceux du protocole 11, il est alors convenu que la méthodologie adoptée est satisfaisante.

3.2.4.3 Quatorzième protocole

(a) Description du protocole

Pour des raisons de temps il a été nécessaire de réaliser de nouveaux tests plus rapidement que le protocole 11 le permettait. Le protocole 14 est identique au protocole 11 sauf qu'il n'y a pas de temps de cure entre les injections de liquide de cimentation et que le volume de liquide de

cimentation est modifié, pour varier le pourcentage de CaCO_3 qui précipite. L'injection de cimentation se fait d'une traite. Quatre échantillons ont été réalisés suivant ce protocole, 2 échantillons avec 300ml et deux échantillons avec 1L, malheureusement, l'un des échantillons d'1L était brisé au démoulage. Pour éviter d'augmenter l'imprécision de la teneur en carbonate de calcium, les échantillons n'ont pas été laissés dans l'eau.

(b) Observation des résultats

Il sera présenté au chapitre suivant les résultats concernant ce protocole, cependant un doute persiste concernant les échantillons avec 1L de liquide de cimentation. Pendant leur période de séchage et contrairement à ce qui était indiqué sur le four, la température de ce dernier a été grandement modifiée (la température a dépassé les 100°C pendant un jour avant d'être remise à 50°C), ce qui a entraîné des phénomènes étrange concernant le poids des échantillons (ils ont gagné de la masse après que la température soit revenue à 50°C). Pour avoir une meilleure idée du pourcentage correct de carbonate de calcium de l'échantillon, les moyennes minimum et maximum, calculée grâce à l'efficacité de la précipitation (plus à ce sujet au chapitre suivant) sont utilisées dans les graphes.

On retrouve l'observation de la précipitation d'un cristal cubique en sortie du traitement.

(c) Conclusion

Ce protocole permet de mettre en avant des pistes sérieuses d'industrialisation du procédé, étant plus court que le protocole 11 et permettant de fournir des résultats au moins similaires pour un volume percolé similaire. Cependant, d'autres tests, qui ne sont pas à l'ordre des travaux présentés ici, sont à réalisés car ce protocole met au défi certaines informations de la littérature, notamment le besoin d'un temps de cure entre les injections de cimentation.

3.3 Tests

3.3.1 Coloration de Gram, de spores et test de mobilité

Ces tests permettent de caractériser la ou les bactéries qui sont cultivées dans les pétris. Bien que ces étapes ne soient pas nécessaires, elles permettent de s'assurer qu'il n'y a pas contamination des milieux de cultures par une bactérie indésirable.

Ces essais visent à révéler les bactéries capables (ou non) de générer des spores, celles Gram positives et mobiles grâce au flagelle de part et d'autre de la bactérie (mais rarement visible).

3.3.1.1 Préparation des lames de verre

Pour faciliter la réalisation de ces tests et l'observation au microscope, un cercle délimitant l'emplacement des bactéries est tracé avec un crayon de cire. Ensuite, avec une boucle d'inoculation en métal stérilisée (c'est-à-dire rougie sur une flamme puis refroidie à l'air libre), un peu d'eau déminéralisée est prélevée puis déposée dans le cercle. L'étape de stérilisation est à recommencer avant de prélever quelques bactéries et de les étaler sur la lame avec un peu d'eau.

Pour les colorations de Gram et de spores, les bactéries sont séchées en les passant rapidement au-dessus d'une flamme. Cette étape permet d'éviter que les bactéries ne soient lessivées par les manipulations ultérieures en les fixant au support qu'est la lame de verre. Cette étape n'est pas à conduire pour l'observation de la mobilité car les bactéries ne seront plus mobiles après coup.

Une fois les bactéries étalées sur une lamelle il devient possible de poursuivre les manipulations selon les tests à faire.

3.3.1.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram vise à modifier la couleur des micro-organismes observés en violet pour des Gram + et rouge pour des Gram -. Pour ce faire, les bactéries subissent une série d'aspersions. Une solution de cristal violet est utilisée pour inonder les bactéries, suivie d'un *mordant* (du Lugol) utilisé pour faire pénétrer la coloration violette dans les Gram+. S'ensuit l'utilisation d'un décolorant (dans notre cas de l'éthanol) pour décolorer les bactéries Gram -. La dernière étape consiste à inonder les bactéries d'un colorant rouge (ici de la safranine). Pour chaque étape de coloration et de mordant, compter environ une minute d'inondation. Pour le décolorant, une dizaine de goutte est un maximum.

Grâce au *mordant*, la couleur violette devrait rester pour les Gram+ même après le passage du décolorant et le colorant rouge ne devrait pas modifier plus que ça la couleur violette de ce type de micro-organismes.

La délicatesse de cette technique réside dans l'utilisation du décolorant. S'il y en a trop, une partie de la couleur violette peut quand même disparaître des bactéries pour ensuite être

remplacée par un rouge vif. Dans l'exemple en Figure 3.18, on remarque qu'un peu trop de décolorant a été utilisé car les bactéries présentent un rouge un peu trop vif. Cependant, la couleur violette aux extrémités permet de conclure sur le caractère Gram+ des bactéries.



Figure 3.18: Observation de la coloration de Gram de *S.pasteurii*.

3.3.1.3 Coloration de spores

La coloration de spores vise à donner aux spores présentes, s'il y en a, une couleur verte, et une couleur rouge aux autres micro-organismes.

Pour ce faire, la lame de verre est inondée continuellement pendant 2 minutes de vert de malachite tout en étant chauffée, par une flamme par exemple. Ensuite, la lame est rincée avec de l'eau déminéralisée avant d'être inondée de safranine pendant 1 minute et rincée à nouveau.

3.3.1.4 Test de mobilité

Ce test est le plus facile à réaliser pour peu qu'il n'y ait pas eu trop de bactéries déposées sur la lame de verre. Après avoir couvert les bactéries dans un peu d'eau et une lamelle de verre, il devient possible de les soumettre directement au microscope pour l'observation. Si les bactéries sont mobiles, elles vont pouvoir être observées en déplacement. La présence des flagelles peut se détecter par le comportement du déplacement des bactéries. Si ces dernières se déplacent en

pouvant faire des allers retours, il est probable qu'elles possèdent des flagelles bipolaires. La mobilité des bactéries est observable au microscope Fig 3.19.

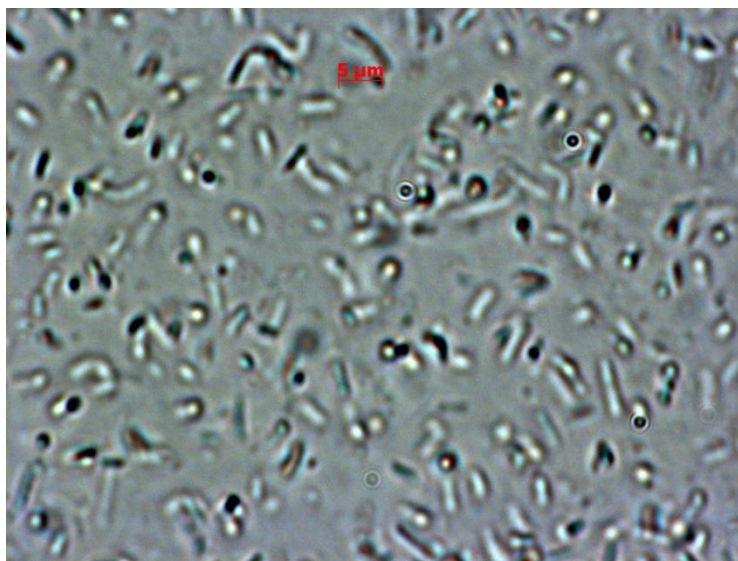


Figure 3.19: Image des bactéries pendant le test de mobilité.

3.3.2 Cycles gel-dégel

Suite à divers tests pour déterminer un temps satisfaisant de durée de gel et de dégel, un minimum de 24 heures pour chaque étape de gel et de dégel est estimé. Ce temps, bien que long, permet de s'assurer que les échantillons sont entièrement gelés ou dégelés.

Le congélateur utilisé est réglé à sa température basse maximale, soit -10°C , et la température de dégel est la température du local, soit environ 20°C . Les échantillons sont complètement submergés dans de l'eau du robinet avant les cycles. Le choix d'une eau d'immersion de la ville vient d'une volonté de minimiser les différents impacts sur l'échantillon si une eau déminéralisée était utilisée. Une fiche de qualité de l'eau utilisée (eau de la ville de Montréal) est fournie en ANNEXE-A.

Concernant les effets de l'eau sur les échantillons, il est important de noter que les échantillons avant le protocole 11 avaient tendance à se dissoudre dans l'eau, ce qui rendait l'étape des cycles gel-dégel délicate. Cette dissolution ne s'est pas sentie avec le protocole 11, probablement parce qu'une résistance suffisante a été atteinte ou parce que la réaction est faite plus efficacement. L'eau n'est pas changée entre les cycles pour éviter une perte potentielle de carbonate de calcium si ce cristal est mis en contact avec une eau avec laquelle il n'est pas en équilibre. Il est important

de préciser que les échantillons restent dans l'eau tant que tous les échantillons n'ont pas fini leurs cycles, de ce fait, le temps dans un milieu humide sera identique pour les échantillons, et, s'il y a perte de carbonate de calcium dans l'échantillon à cause d'une dissolution, cette perte devrait être similaire dans les échantillons.

Le Tableau 3.8 est un récapitulatif des traitements/essais effectués.

Réf.	Protocole	Volume cimentation	Saturation	Nombre de cycles	Séchage (semaine)		Analyse XRD et imagerie
					1	2	
0-5	13	500 ml	Oui	0	X		Non
0-14	13	500 ml	Oui	0		X	Non
0-15	13	500 ml	Oui	0	X		Non
1-1	13	500 ml	Oui	1	X		Non
1-19	13	500 ml	Oui	1	X		Non
1-21	13	500 ml	Oui	1		X	Non
2-2	13	500 ml	Oui	2	X		Non
2-13	13	500 ml	Oui	2	X		Non
2-17	13	500 ml	Oui	2		X	Non
3-8	13	500 ml	Oui	3		X	Non
3-12	13	500 ml	Oui	3	X		Non
3-16	13	500 ml	Oui	3	X		Non
5-6	13	500 ml	Oui	5		X	Non
5-18	13	500 ml	Oui	5	X		Non
5-20	13	500 ml	Oui	5	X		Non
7-4	13	500 ml	Oui	7		X	Non
7-9	13	500 ml	Oui	7	X		Non
7-10	13	500 ml	Oui	7		X	Non
10-3	13	500 ml	Oui	10	X		Non
10-7	13	500 ml	Oui	10	X		Non
10-	13	500 ml	Oui	10	X		Non
0-Z	14	300 ml	Non	0	X		Non
0-S	14	300 ml	Non	0	X		Oui
0-C	14	1L	Non	0	X		Oui
0-	14	1L	Non	0	X		Non

3.3.3 Compression simple

3.3.3.1 Taillage du moule



Figure 3.20: Outils utilisés pour le taillage d'un échantillon.

Pour que les essais de compression simple se déroulent de façon optimale selon la norme ASTM D-2166, il est important que les surfaces de contact entre la machinerie et l'échantillon, surface haute et basse, soient aussi planes que possible. La qualité du taillage peut faire varier la qualité du résultat et des interprétations qui en découlent. Si cette étape n'est pas menée avec soin, les efforts exercés sur l'échantillon pourraient ne pas être uniformément répartis à la surface de contact, ce qui pourrait alors induire des concentrations de contraintes et une rupture prématurée de l'échantillon.

La tolérance d'inclinaison pour une compression simple sur des roches (ASTM D7012) est de l'ordre de 25 μm , ce qui n'est pas réalisable avec nos échantillons. Ces derniers étant trop fragiles, il est nécessaire de les préparer manuellement. La planéité a été assurée par des mesures de hauteur en différents points des échantillons et respectée le mieux possible.

Pour tailler un échantillon obtenu à l'aide des divers protocoles proposés, celui-ci est délicatement déposé sur un support prévu pour la taille d'échantillon et la surface à tailler est limée. Cet outil est celui qui montre le moins d'impact violent sur l'échantillon et qui permet de moins endommager l'échantillon.

Une certaine attention doit être portée à cette étape car les échantillons peuvent parfois être friables et se désagréger rapidement pendant la taille. D'ordinaire, à peine quelques millimètres sont enlevés de chaque côté si les surfaces originales sont relativement planes. Si la surface originale est un peu déformée (ce qui peut arriver avec le choc de la percolation du liquide sur l'échantillon), jusque 0.5 cm peuvent être enlevés.

3.3.3.2 Compression simple

Un essai de compression uniaxiale permet de soumettre graduellement, grâce à une presse, un échantillon à une contrainte dans une seule direction. Dans ce cas, la contrainte principale est

$$\sigma_1 = P/A$$

Et les autres contraintes $\sigma_2 = \sigma_3 = 0$.

Où P est la charge appliquée sur l'échantillon et A la surface où cette charge est appliquée (ou la section transversale de l'échantillon).

Cette contrainte est calculée à partir de la surface transversale de l'échantillon, qui évolue lors de sa compression.

La contrainte axiale réelle sera alors :

$$\sigma = P/A_c$$

où A_c est la section transversale corrigée de l'échantillon. Cette correction est directement liée à la déformation axiale subie par l'échantillon. La correction est alors :

$$A_c = \frac{\pi - D^2}{4(1 - \varepsilon)}$$

où D est le diamètre initial de l'échantillon et ε est la déformation axiale donnée par :

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L}$$

Où L est la longueur initiale de l'échantillon.

La vitesse de la presse est de 1.25 mm/min, ce qui reste entre les contraintes imposées par la norme de 0.5% à 2% de la hauteur maximale de l'échantillon par minute.



Figure 3.21: Presse utilisée pour la compression simple

3.3.4 Détermination de la teneur en carbonate de calcium

3.3.4.1 Différence de poids

Le poids d'un échantillon varie pendant le traitement. À cause de la précipitation de carbonate de calcium, il est attendu que le poids de l'échantillon sec soit plus important après le traitement qu'avant. Il est envisageable que d'autres éléments soient impliqués dans la variation de poids de l'échantillon, comme par exemple les bactéries, servant de site de nucléation du cristal, et d'autres impuretés provenant des liquides injectés. Les mesures de masse des pastilles de bactéries pour l'absorbance donnée d'environ 2.5 à 600 nm permettent d'estimer le poids des bactéries dans un échantillon à environ 1.5g.

Suivant cette logique, pour déterminer la masse de carbonate de calcium, il faut peser l'échantillon sec avant traitement, et le même échantillon, sec, après traitement. La différence de masse ainsi observée correspond à la masse de carbonate de calcium et de bactéries dans l'échantillon.

3.3.4.2 Lessivage à l'acide

Le protocole suivant de dissolution du carbonate de calcium permet de vérifier ou d'infirmer la mesure de teneur en carbonate de calcium du sol obtenue par la méthode par pesée, ainsi que sa répartition dans l'échantillon et donc l'uniformité du traitement.

L'échantillon traité est découpé en morceaux, déposés dans des capsules identifiées, séchés pendant 24h et ensuite pesés.

Une fois sec, chaque petit volume de sable des capsules est alors déposé dans un bécher avec 500 ml d'eau distillée, le pH de cette solution doit être amené à pH 3 pour dissoudre la calcite, pour ce faire, de l'acide chlorhydrique est utilisé.

Le vide est utilisé pour récupérer uniquement le sable, qui est ensuite séché et pesé. Pour ce faire, le mélange de sable et de solution acide est versé dans un contenant relié au vide du laboratoire; un filtre permet de récupérer le sol.

La différence de poids est la dissolution des éléments à l'acide qui passent au travers du filtre (ouverture de 20 μm). Ces éléments sont principalement le carbonate de calcium dissous et les bactéries.

3.3.5 Rayon X et MEB

Les analyses de diffraction aux rayons X et l'utilisation d'un Microscope Électronique à Balayage (MEB) ont été réalisées par le Centre de Caractérisation Microscopique des Matériaux (CM²) à l'École Polytechnique.

Rayon X

L'utilisation de diffraction aux rayons X est pertinente dans notre étude car les analyses portent sur des cristaux (que ce soit pour le carbonate de calcium ou les cristaux présents à l'exutoire de l'échantillon).

Un faisceau de rayon X est envoyé sur l'échantillon réduit en poudre et un récepteur fait le tour de l'échantillon pour capter les variations d'intensité selon l'angle diffracté.

Cette intensité sera alors mesurée et représentée à l'ordonnée et le résultat sera sous forme de pics de diffraction. L'abscisse, noté position « 2θ », réfère à la position du récepteur, θ étant le

demi-angle de déviation (la moitié de l'angle entre la direction de l'émetteur et de celle du récepteur), 2Θ est alors l'angle complet entre l'émetteur et le récepteur.

MEB

Avant de soumettre un échantillon au Microscope électronique à Balayage, il peut être intéressant, pour améliorer la qualité du rendu, d'appliquer une très fine couche d'un métal conducteur (de l'or).

Des électrons sont bombardés avec une certaine tension sur les surfaces de l'échantillon qui vont émettre des électrons secondaires qui seront alors accélérés et amplifiés par le détecteur. Les différents éléments ainsi que la topographie peuvent alors être visualisés une fois le balayage effectué.

CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1 Résultat

La partie ci-après concerne les résultats observés avec les échantillons du protocole 11, le protocole optimal et dans une moindre mesure ceux du protocole 14. Les résultats des autres protocoles, décrits largement dans la partie précédente, qui sont souvent observables à l'œil nu avec des tests manuels pour ce qui concerne la friabilité, l'aspect, et autres caractéristiques, n'ont pas été testés plus en détails, car ne présentant pas les propriétés souhaitées.

Suite au traitement selon le protocole 11, les échantillons ont été soumis à divers cycles de gel-dégel. Pour comprendre l'impact de ce phénomène, plusieurs cycles sont testés : 0, 1, 2, 3, 5, 7 et 10. Pour chacun de ces cycles, 3 échantillons sont réalisés. Deux échantillons ont été utilisés systématiquement, le troisième était gardé dans le four et testé au cas où les résultats des deux autres échantillons étaient trop différents ou si un échantillon se brisait.

Pour les tests des cycles 7 et 10, ces échantillons de secours ont été utilisés mais ont été brisés au démoulage, comme les précédents.

4.1.1 Carbonate de Calcium

4.1.1.1 Type de cristaux

Les analyses aux rayons X ont été effectuées par le personnel du laboratoire CM² de Polytechnique Montréal. Deux échantillons de sol biocalcifié ont été analysés. Ces échantillons étaient des produits du protocole 14 qui n'avaient pas été soumis à des cycles ni à une saturation.

La première analyse concerne un échantillon ayant reçu une injection d'un litre de liquide de cimentation. Les résultats sont présentés dans la figure 4.1.

Il est important de noter que le score affiché ne représente pas une quantité d'élément. Le score, en pourcent, est un indicateur de la compatibilité de la courbe (les pics, et notamment le pic le plus important) comparée à une courbe de référence. Pour déterminer la quantité (présence) d'une phase (composé chimique et cristallographie), il faut ensuite regarder l'intensité des pics principaux (ou du pic principal). Ainsi, un score élevé indique la présence de plusieurs pics mais

pas obligatoirement des pics principaux, ce qui peut tout de même amener à la conclusion sur l'absence d'une phase.

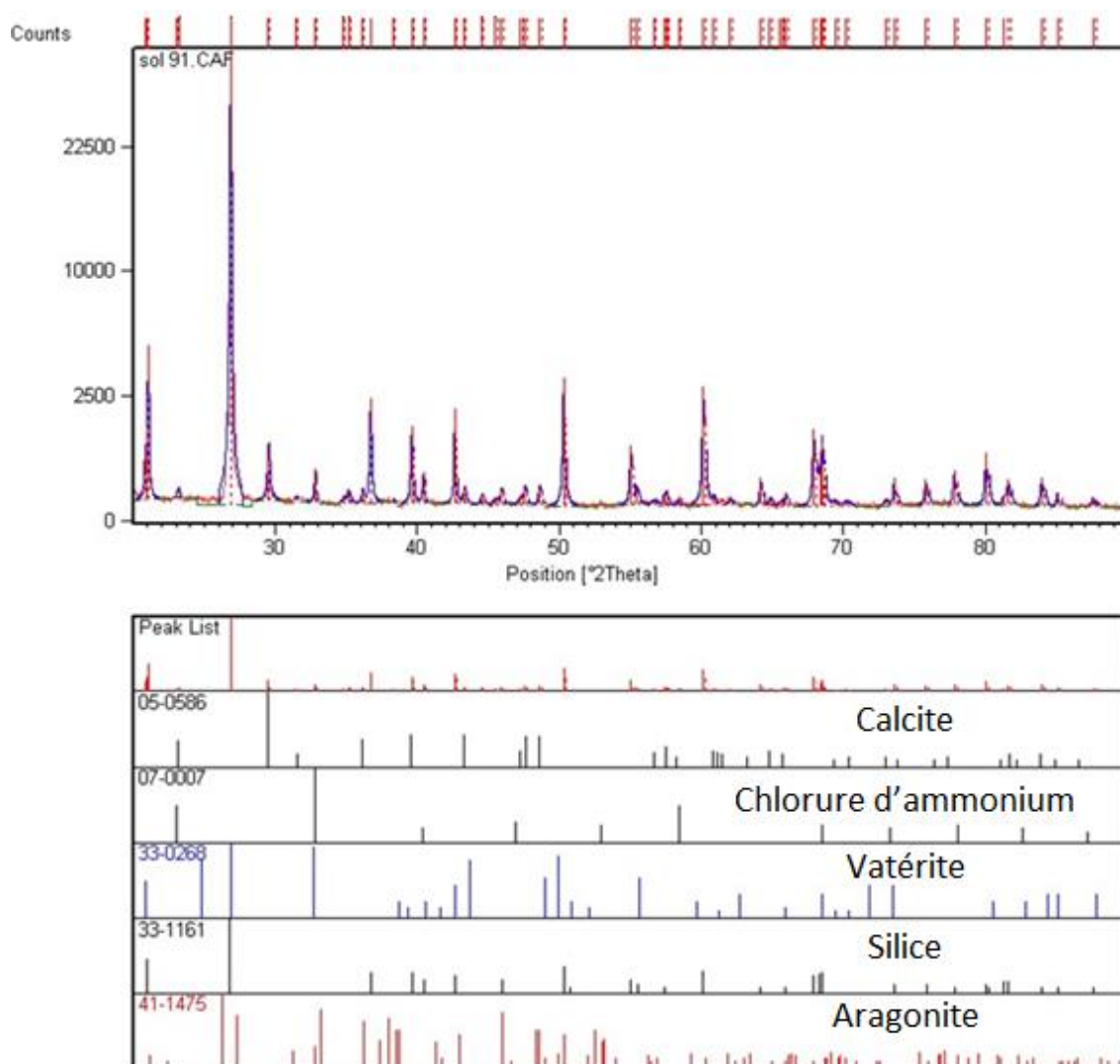


Figure 4.1: Analyse rayon X – Échantillon 0-S

Tableau 4.1: Résultats de l'analyse aux rayons X de l'échantillon 0-S

Élément	Score	Référence
Calcite (CaCO ₃)	71 %	05-0586
Chlorure d'ammonium	54%	07-0007
Vatérite (CaCO ₃)	31%	33-0268
Silice (SiO ₂)	76%	33-1161
Aragonite (CaCO ₃)	26 %	41-1475

Pour cet échantillon, les phases présentes en majorité sont la silice (SiO_2), du carbonate de calcium sous forme de calcite et du chlorure d'ammonium (NH_4Cl) lui aussi cristallisé.

Pour déterminer quelle phase est présente, il faut regarder les (ou le) pics principaux, c'est-à-dire les pics d'intensité les plus importants. Avec l'exemple de la calcite, on remarque que le pic le plus important est aux environs de 30° . On retrouve ce pic sur la mesure, avec cette fois une intensité représentative de sa teneur dans l'échantillon mesuré. Il y a donc de la calcite.

Pour la vatérite maintenant, cet élément possède plusieurs pics d'intensité similaire dans son graphe de référence. On ne retrouve pas tous ces pics importants sur le graphe de mesure, et ceux retrouvés sont à très faible intensité. Ceci permet de conclure que la vatérite pourrait être présente, mais en très faible quantité. Les pics absents peuvent être la conséquence d'un décalage.

Pour l'aragonite, bien que le score soit de 26%, on ne retrouve pas les pics principaux de cet élément, il est donc absent de l'échantillon.

Les résultats concernant le second échantillon analysé sont présentés sur la Figure 4.2. Cet échantillon est lui aussi réalisé avec le protocole 14, mais cette fois avec seulement 300 mL de solution de cimentation.

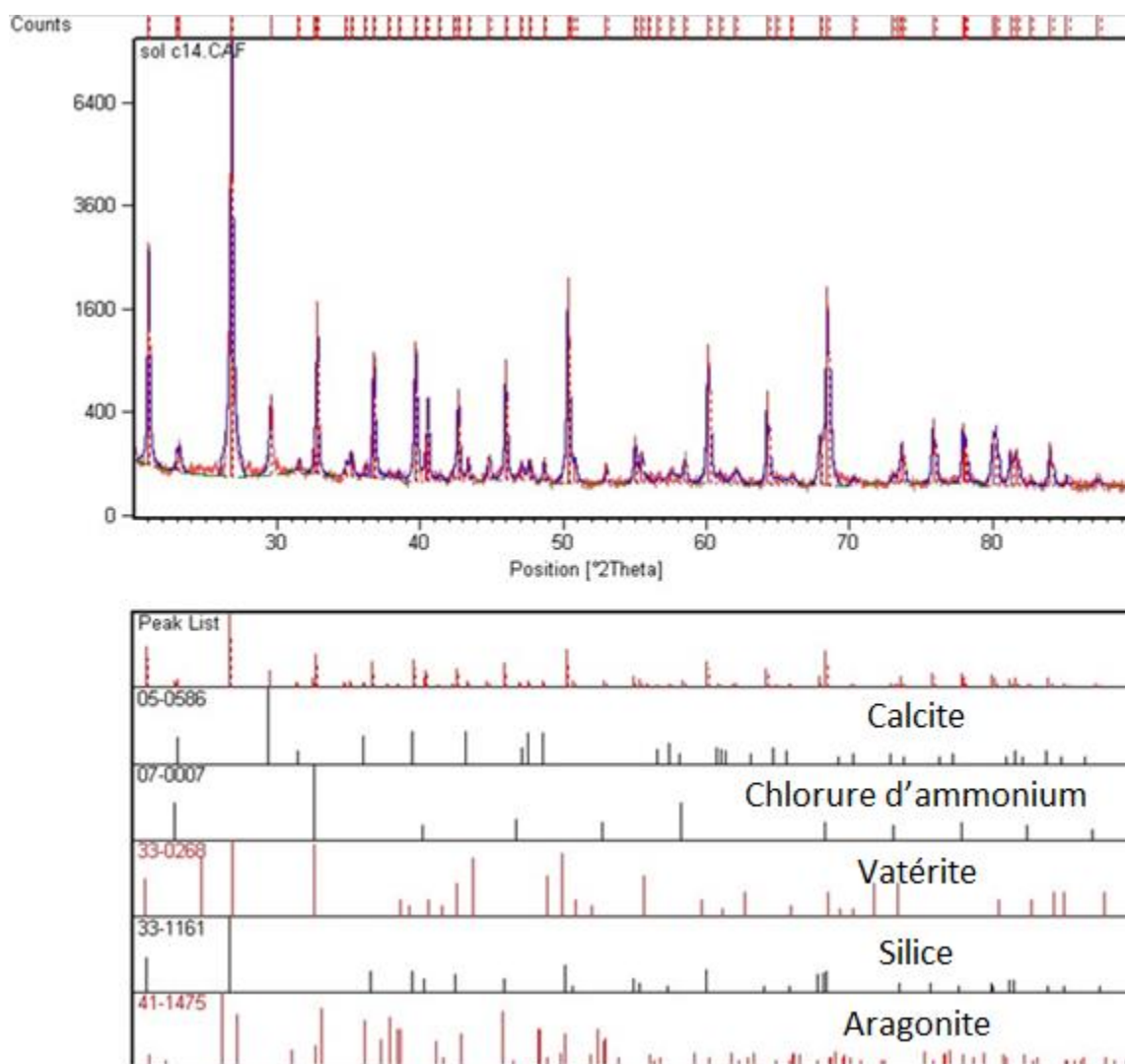


Figure 4.2: Analyse aux rayons X – Échantillon 0-C

Tableau 4.2: Résultats de l'analyse aux rayons X de l'échantillon 0-C

Élément	Score	Référence
Calcite (CaCO_3)	72 %	05-0586
Chlorure d'ammonium	55%	07-0007
Vatérite (CaCO_3)	40%	33-0268
Silice (SiO_2)	80%	33-1161
Aragonite (CaCO_3)	40 %	41-1475

On retrouve une forte présence de silice, de calcite et de chlorure d'ammonium.

En suivant une méthode d'identification similaire à celle utilisée pour l'échantillon précédent, il est possible de conclure à l'absence de vaterite et d'aragonite (absence des pics principaux).

La présence de chlorure d'ammonium provient probablement de résidus de l'hydrolyse de l'urée. Son coefficient de solubilité est d'environ 414 g/L à 30°C, alors que la calcite ne présente que $8.6 \cdot 10^{-2}$ g/L pour la même température (Stchouzkoy-Muxart, 1971). La calcite étant bien moins soluble que le chlorure d'ammonium, il est cohérent de faire l'hypothèse selon laquelle l'augmentation de masse des échantillons lors du traitement ne résulte que de la précipitation de calcite.

Finalement, ces résultats permettent de répondre à une question importante, **le cristal précipité à l'origine de l'amélioration des caractéristiques du sol est effectivement de la calcite et non de la vaterite ou de l'aragonite.**

4.1.1.2 Teneur en carbonates de calcium

4.1.1.2.1 Erreur de mesure

La détermination du pourcentage de CaCO_3 via la différence de masse se mesure principalement avec une balance. Ainsi, chaque mesure est aussi précise que peut l'être la balance, une certaine incertitude sur les résultats peut alors survenir.

En plus des « erreurs » liées à la balance, le phénomène décrit plus haut de grains de sable qui se détachent pendant les cycles de gel-dégel entraîne une autre incertitude, d'une importance supérieure à la précédente.

La masse de sable perdu a parfois pu être mesuré, le sable détaché a été récupéré, séché et pesé. Cependant, il n'a pas toujours pu être possible de récupérer précisément tous les grains de sable détachés. Dans l'ensemble, cette masse perdue est évaluée avec les pesées faites et estimée par l'observation.

Cette étape a permis de souligner que la perte de sable devenait plus importante avec le nombre de cycles gel-dégel, mais chaque échantillon reste unique vis-à-vis de la perte de sable, principalement à cause des manipulations.

Les échantillons soumis au cycle 0 (donc qui sont simplement restés dans l'eau) voient une perte de l'ordre de moins d'un gramme. Ceux soumis au cycle 10 observent une perte d'environ 3 grammes.

L'équation pour obtenir le pourcentage de CaCO_3 dans l'échantillon est la suivante :

$$\% = \frac{M_2 - M_1}{M_1 - M_M}$$

Avec M_1 : Masse du sol et du moule avant traitement; M_2 : Masse du sol et du moule après traitement; M_M : Masse du moule. Toutes les masses sont en gramme (g).

Les incertitudes concernant ces paramètres peuvent être dues à la pesée ou à la perte de sable dans l'échantillon au fil des cycles. Les paramètres M_1 et M_M sont indépendants de la perte de sable, leur incertitude ne se rapporte qu'à la précision de la balance. Le paramètre M_2 cumule cependant deux incertitudes, celle de la pesée et celle de la masse de sable disparu.

On a alors :

$$\Delta M_1 = \Delta M_M = \Delta Wb$$

Et

$$\Delta M_2 = \Delta Wb + \Delta Wp - \Delta Wo$$

Avec ΔWb représentant la précision de la balance, ΔWp la masse de sable perdu et ΔWo la masse de bactéries. ΔWb est donnée par la fiche technique de la balance, ce qui donne une précision de l'ordre de 0.02g. ΔWo est estimé à 1.5g comme expliqué dans le chapitre précédent. ΔWp est une mesure ou une évaluation par l'observation. Comme expliqué plus haut, la perte de sable pour tous les échantillons n'a pu être mesurée. Et même pour ceux-ci, compte tenu des manipulations, il est possible que tout le sable n'ait pas été récupéré. Cependant, l'estimation un peu surévaluée permet d'avoir une valeur conservative.

Pour que les incertitudes soient cohérentes et pour les raisons expliquées ci-haut, ΔWp a été légèrement surestimé.

En appliquant la méthode de calcul d'erreur de Bardet (1997), on a :

$$\frac{\partial \%}{\partial M_1} = \frac{-(M_1 - M_M) - (M_2 - M_1)}{(M_1 - M_M)^2} = \frac{M_M - M_2}{(M_1 - M_M)^2}$$

$$\frac{\partial\%}{\partial M_2} = \frac{1}{(M_1 - M_M)}$$

$$\frac{\partial\%}{\partial M_M} = \frac{(M_2 - M_1)}{(M_1 - M_M)^2}$$

Ensuite, le calcul de $\Delta\%$, est alors :

$$\Delta\% = \sqrt{\left(\frac{\partial\%}{\partial M_1} \cdot \Delta M_1\right)^2 + \left(\frac{\partial\%}{\partial M_2} \cdot \Delta M_2\right)^2 + \left(\frac{\partial\%}{\partial M_M} \cdot \Delta M_M\right)^2}$$

$$\Delta\% = \sqrt{\frac{(M_M - M_2)^2}{(M_1 - M_M)^4} \cdot \Delta W b^2 + \frac{1}{(M_1 - M_M)^2} \cdot (\Delta W b + \Delta W p - \Delta W o)^2 + \frac{(M_2 - M_1)^2}{(M_1 - M_M)^4} \cdot \Delta W b^2}$$

Comme le sable perdu induit une sous-estimation du % de CaCO_3 dans l'échantillon, le $\Delta\% +$ (erreur maximum), va considérer les mesures et estimation de $\Delta W p$, alors que le $\Delta\% -$ (erreur minimum) les considère nulles pour ne prendre en compte que la précision de la balance et $\Delta W o$.

4.1.1.2.2 Augmentation du poids des échantillons après traitement et après cycles

En utilisant la méthode d'évaluation du carbonate de calcium par la différence de masse, pour différents échantillons générés par le protocole 11 et 14, soumis à plusieurs cycles de gel-dégel, on obtient le graphe d'augmentation du poids de l'échantillon, en pourcentage, de la Figure 4.3.

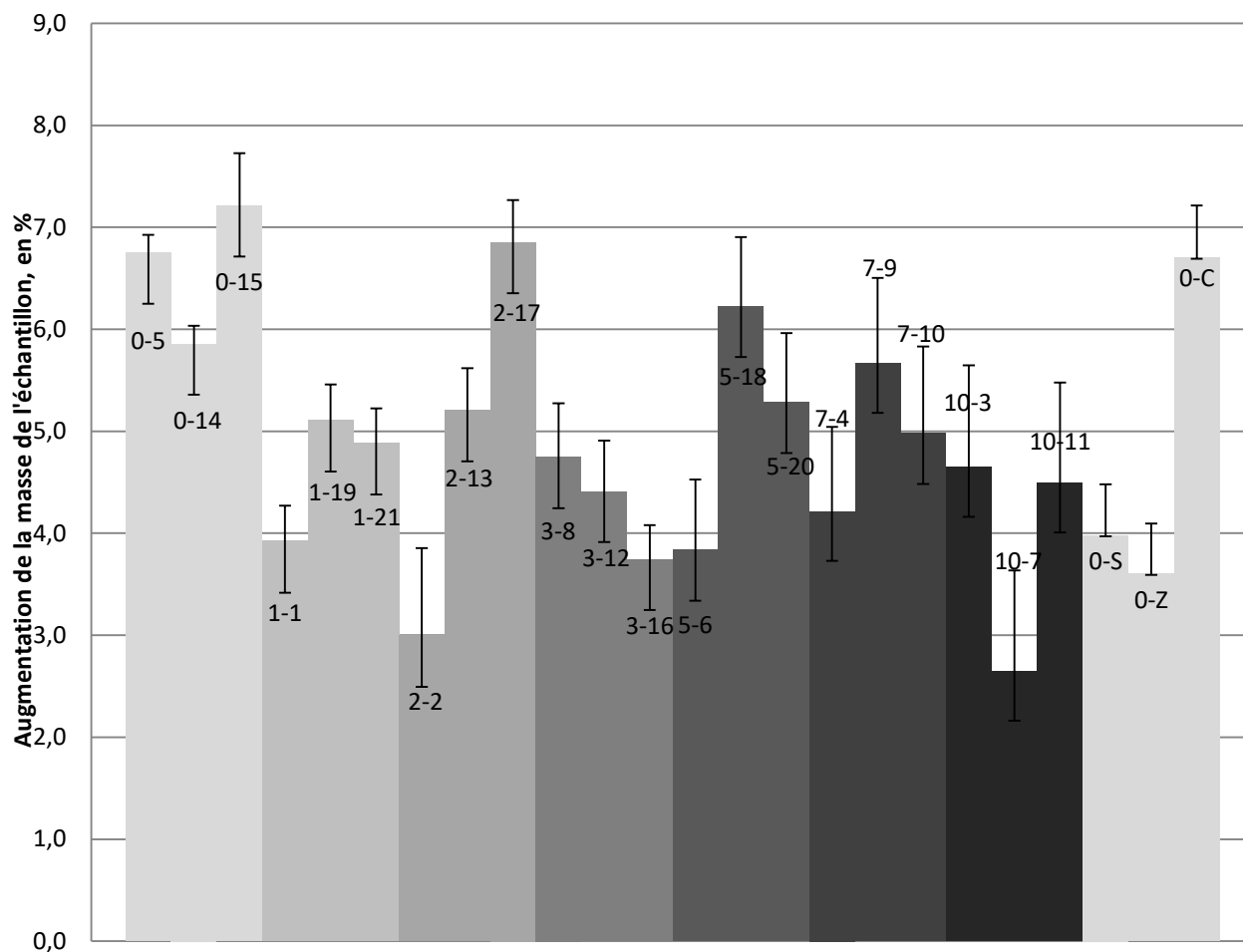


Figure 4.3: % d'augmentation de masse des échantillons, X-Y : X= nombre de cycles; Y= numéro d'échantillon

La Figure 4.3 semble, au premier abord, présenter une courbe d'évolution de la masse qui diminue au fil des cycles. Cependant, les mesures pour les cycles 1 à 4 contredisent cette observation car une tendance à l'augmentation est observée entre les cycles 1 et 3, de même qu'entre les cycles 3 et 5.

Pour le protocole 11, la moyenne haute de l'augmentation de masse (en considérant uniquement les valeurs aux incertitudes supérieures) est de l'ordre de 5.53%, la moyenne basse (considérant les incertitudes inférieures) est de 4.44%, donc les échantillons vont prendre en moyenne 5% de masse après le traitement via le protocole 11. L'écart type est entre 1.18% et 1.09% ce qui est assez élevé compte tenu des valeurs déjà assez faibles des pourcentages, il y a une certaine disparité dans les résultats. Quant au protocole 14, les échantillons 0-S et 0-Z présentent peu de

carbonate de calcium comme le laisse supposer leur protocole (avec un volume d'injection moindre), l'échantillon 0-C présente moins que ce qu'il est supposé avoir, étant donné qu'il a reçu le double de volume de cimentation que les échantillons du protocole 11. Cependant, des mauvais réglages du four ont entraîné quelques biais de mesure de poids. À la suite de l'étude sur l'efficacité de précipitation, cet échantillon devrait présenter environ 2% de masse supplémentaire (pour environ 9% de carbonate de calcium).

Comme précisé au paragraphe de description des tests de cycles gel-dégel, pour le protocole 11, les échantillons ont passé le même temps dans l'eau, peu importe le nombre de cycles gel-dégel subits. Il est donc peu probable que le temps lié à la réalisation des cycles gel-dégel puisse générer des différences dans les quantités de carbonates de calcium présents dans les échantillons. Par ailleurs, les échantillons ont été choisis de façon aléatoire pour limiter les biais expérimentaux.

Il est aussi important de noter la taille des échantillons a mis en évidence que la quantité de grains de sable lâches en surface augmente avec le nombre de cycles. Ainsi, pendant la phase de séchage, les échantillons ayant subi le plus de cycles ont vraisemblablement « perdu » plus de grains de sable. Ce phénomène peut s'expliquer par les tensions exercées sur l'échantillon avec le gel qui désolidarise petit à petit la couche supérieure de l'échantillon. Cette perte est prise en compte dans les barres d'incertitudes, par une estimation de la quantité de sable perdu. L'incertitude sur le pourcentage de calcite dans les échantillons augmente donc avec le nombre de cycles gel-dégel.

4.1.1.2.3 Teneur après lessivage à l'acide

Les échantillons qui ont été lessivés à l'acide sont des produits du protocole 14. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-après :

Tableau 4.3: Résultats du lessivage à l'acide

	p14	p14	p14	p14
posit°/ech	0-Z	0-S	0-C	0-uC
haut	7,72	8,00	7,81	8,79
milieu	2,95	3,04	4,55	4,76
bas	1,74	2,15	5,13	7,02
moy	4,14	4,40	5,83	6,86
% pesé	3,98	3,6	5,93	6,7

On remarque que la partie haute de l'échantillon a considérablement plus de carbonates de calcium que le reste de l'échantillon. Pour les échantillons 1 et 2, injectés avec 300 ml de solution de cimentation, donc moins que le protocole 11, on retrouve bien un pourcentage assez bas, voire très faible dans le bas de l'échantillon. En revanche, pour les échantillons avec 1L de solution c'est le milieu qui a la plus faible teneur en carbonate de calcium.

Étonnamment, la moyenne du % sur l'ensemble de l'échantillon est souvent plus haute que celle mesurée par la différence de poids (malgré le lessivage des bactéries qui compose environ 0.5% de la teneur mesurée en pesée). Cependant, les deux méthodes donnent des résultats très similaires. Dans un souci de simplification et de limitation de la manipulation d'acide, la méthode par pesée a été privilégiée pour l'ensemble des essais.

4.1.1.2.4 Efficacité de la précipitation

En utilisant les concentrations molaires des éléments injectés dans le sol et en comparant avec le carbonate de calcium, il est possible d'avoir une idée de l'efficacité de la précipitation.

Il faut d'abord trouver quel est le facteur limitant de la réaction, c'est-à-dire, l'élément qui a l'efficacité la plus importante (car c'est cet élément qui est le « plus utilisé »).

Une fois que l'élément est déterminé il devient possible de calculer l'efficacité avec la masse finale (dans le cristal) par rapport à la masse injectée. Ce calcul correspond à l'équation 4-1.

$$Efficacité = \frac{M_F \text{ élément}}{M_I \text{ élément}} \quad (4-1)$$

Avec M_I la masse de l'élément injecté et M_F la masse de l'élément final.

Pour calculer cette efficacité, il faut partir des valeurs en masse molaire du tableau périodique, puis déterminer la part, en %, des différents éléments qui composent les éléments injectés, et celles de l'élément formé (carbonate de calcium). Ces résultats sont présentés dans le Tableau 1 en Annexe B.

Ces informations, combinées avec la concentration en g/L de chacun des éléments injectés ainsi que leur volume respectif permet de déterminer quelle quantité (en masse) d'éléments a été injectée. Ce résultat pose la limite maximale de la précipitation, qui correspond à la masse théorique de précipités.

Ensuite, il suffit de faire le chemin de calcul inverse. Partir de la masse de carbonate de calcium (mesurée) des échantillons, détailler la composition de cette masse pour déterminer le poids de chacun des éléments, ce qui permet d'obtenir les M_F pour enfin déterminer l'efficacité.

On observe que l'élément avec l'efficacité la plus haute est l'oxygène. Cependant, les solutions étant dans l'eau, l'oxygène n'est pas l'élément limitant.

La seconde efficacité la plus haute concerne le calcium, qui devient alors notre élément limitant. L'efficacité minimum calculée est de 18%, le maximum de 65% et la moyenne entre 46 et 36%.

Les résultats sont visibles dans le tableau 2 en Annexe B.

Ainsi, pour les échantillons du protocole 11, le pourcentage maximum de carbonate de calcium atteignable est d'environ 12%.

4.1.2 Résistance

4.1.2.1 Calcul des incertitudes

Les calculs de résistance lors des essais en compression simple prennent en compte la charge appliquée sur l'échantillon et son aire. Comme expliqué au chapitre précédent, la déformation de l'échantillon demande à ce que l'aire soit corrigée selon la déformation.

Il reste deux paramètres qui peuvent influencer les mesures : la charge (N), dont les incertitudes viennent de l'outil de mesure, la cellule de force; les mesures de hauteur et de diamètre (mm) de l'échantillon, dont les incertitudes proviennent aussi de l'outil de mesure, le pied à coulisse et enfin, l'incertitude sur le déplacement de la presse, donc la déformation de l'échantillon, qui vient de l'outil utilisé.

Le fournisseur de la cellule de force (cellule LEBOW, modèle 3397, capacité de 300 lbs) donne une précision maximum de l'ordre de 0.05% pour une précision moyenne de 0.07%. Étant donné l'âge de l'outil, la précision considérée est de 0.1%.

Pour le calcul de déplacement, la fiche du fournisseur permet de déterminer une incertitude d'environ 0.075 mm.

Pour déterminer les erreurs liées au pied à coulisse, ce dernier a été utilisé sur des éléments de références, avec une longueur précise. Les mesures de 2.54 mm, 10.16 mm, 25.4 mm et 50.8 mm ont permis, après conversion, de déterminer une erreur moyenne de $9.5 \cdot 10^{-3}$ mm.

En utilisant la même méthode de calcul des incertitudes (R) que pour le pourcentage de carbonate de calcium dans les échantillons, on obtient :

$$R = \frac{F}{A_c} = \frac{F * 4 * \left(1 - \frac{dL}{L}\right)}{\pi - D^2}$$

Avec F la force appliquée en N et A_c en m^2 , donc dL, L et D en m.

Le dL remplace le ΔL pour plus de clarté dans la suite des calculs.

$$\text{Avec : } \Delta F = \frac{0.1}{100} * F ; \Delta D = \Delta L = 9.5 * 10^{-6} m ; \Delta dL = 7.5 * 10^{-5} mm$$

$$\frac{\delta R}{\delta F} = \frac{4 * \left(1 - \frac{dL}{L}\right)}{\pi - D^2} ; \frac{\delta R}{\delta L} = \frac{F * 4 * \left(\frac{dL}{L^2}\right)}{\pi - D^2} ; \frac{\delta R}{\delta D} = \frac{F * 4 * \left(1 - \frac{dL}{L}\right) * 2 * D}{(\pi - D^2)^2} ; \frac{\delta R}{\delta dL} = \frac{F * 4 * \frac{1}{L}}{\pi - D^2}$$

$$\Delta R = \sqrt{\left(\frac{\delta R}{\delta F} \cdot \Delta F\right)^2 + \left(\frac{\delta R}{\delta L} \cdot \Delta L\right)^2 + \left(\frac{\delta R}{\delta D} \cdot \Delta D\right)^2 + \left(\frac{\delta R}{\delta dL} \cdot \Delta dL\right)^2}$$

$$\Delta R = \sqrt{\left(\frac{4 * \left(1 - \frac{dL}{L}\right)}{\pi - D^2}\right)^2 \cdot \Delta F^2 + \left(\frac{F * 4 * \left(\frac{dL}{L^2}\right)}{\pi - D^2}\right)^2 \cdot \Delta L^2 + \left(\frac{F * 4 * \left(1 - \frac{dL}{L}\right) * 2 * D}{(\pi - D^2)^2}\right)^2 \cdot \Delta D^2 + \left(\frac{F * 4 * \frac{1}{L}}{\pi - D^2}\right)^2 \cdot \Delta dL^2}$$

Après simplification :

$$\Delta R = \frac{4 * F}{\pi - D^2} \cdot \sqrt{\left(\frac{\left(1 - \frac{dL}{L}\right)}{F}\right)^2 \cdot \Delta F^2 + \left(\frac{dL}{L^2}\right)^2 \cdot \Delta L^2 + \frac{\left(\left(1 - \frac{dL}{L}\right) * 2 * D\right)^2}{\pi - D^2} \cdot \Delta D^2 + \frac{1}{L^2} \cdot \Delta dL^2}$$

Ces calculs permettent de déterminer que les incertitudes au sujet de la résistance mesurée pendant les essais de compression simple sont de moins de 100 Pa. Cette faible incertitude nous permet de l'ignorer dans les graphiques de ce chapitre.

4.1.2.2 Mesures

Lors du démoulage des échantillons, seuls les échantillons ayant subi 7 et 10 cycles de gel-dégel se sont brisés. Un seul échantillon soumis à 7 cycles a pu être testé.

Ces échantillons étaient brisés en deux au milieu. Le reste de l'échantillon ne semblait pas être affecté particulièrement. Ce bris pourrait s'expliquer par l'évolution des deux fronts de gel dans les échantillons. Comme ces derniers sont placés dans un milieu complètement humide et qu'aucune de leurs extrémités n'est isolée, le gel peut alors se produire préférentiellement par le haut et par le bas des échantillons, le moule agissant en isolant. Les deux fronts de gel avancent alors jusqu'à se rejoindre, à peu près au milieu de l'échantillon. L'eau qui gèle va être soumise à expansion, or le volume contenu entre les deux fronts de gel peut être présumé incompressible (car c'est de l'eau et de la roche), le gel va alors induire une tension dans le sol, ce qui va finir par le briser.

Les échantillons de secours (pour les cycles 0, 1, 2, 3 et 5) sont restés dans le four à 50°C une semaine de plus. Une fois sortis et démoulés, ces échantillons ne présentaient plus de résistance particulière et étaient devenus très friables, tout le contraire de leurs homologues testés une semaine avant. Ce phénomène n'a pu être concrètement étudié et compris. Ce qui explique qu'il n'y a que deux résultats alors que 3 échantillons étaient réalisés pour chaque cycle.

Hormis ces quelques échantillons brisés, les autres ont pu être testés et sont rassemblés dans le graphe suivant (Figure 4.4); ces tests ont été réalisés après les cycles de gel-dégel.

Concernant les résultats du protocole 14, l'un des échantillons avec 1L de solution de cimentation était brisé au démoulage, fendu en 2. Ces échantillons n'ont pas été soumis à un cycle gel-dégel. Les autres échantillons présentent une résistance observable à la figure suivante.

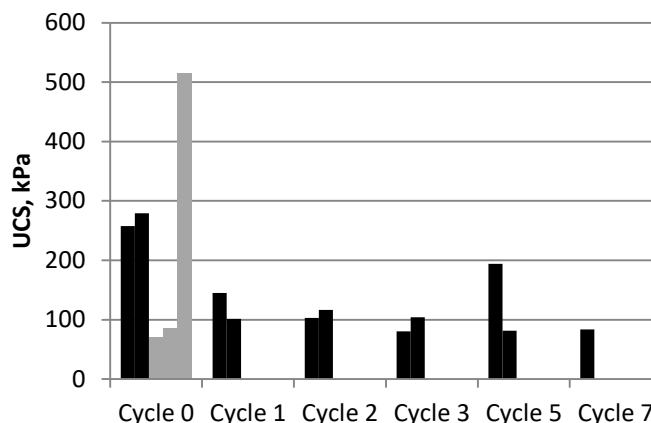


Figure 4.4: Évolution des résultats bruts de résistance en compression simple en fonction du nombre de cycles gel-dégel pour le protocole 11 (en noir) et 14 (en gris).

4.1.2.3 Courbe de l'évolution de la résistance UCS en fonction du pourcentage de CaCO_3 et du nombre de cycles

La résistance obtenue en compression simple pour un sol traité par biocalcification est la résistance des ponts de calcite qui sont formés dans l'échantillon. De ce fait, la contrainte maximum envisageable qu'un échantillon traité pourra subir est la résistance d'un bloc de CaCO_3 . Cette résistance est de l'ordre de 20 MPa (Ceryan et al., 2012; Liu, Shao, Xu, & Wu, 2015).

Les travaux de L. Cheng et al. (2013) montrent l'évolution de la résistance d'un échantillon selon la teneur, et ce pour plusieurs valeurs de saturation (Figure 4.5), ainsi que le volume des ponts formés (Figure 4.6). Ces valeurs montrent une allure exponentielle de l'évolution de la résistance en fonction de la teneur en carbonate de calcium.

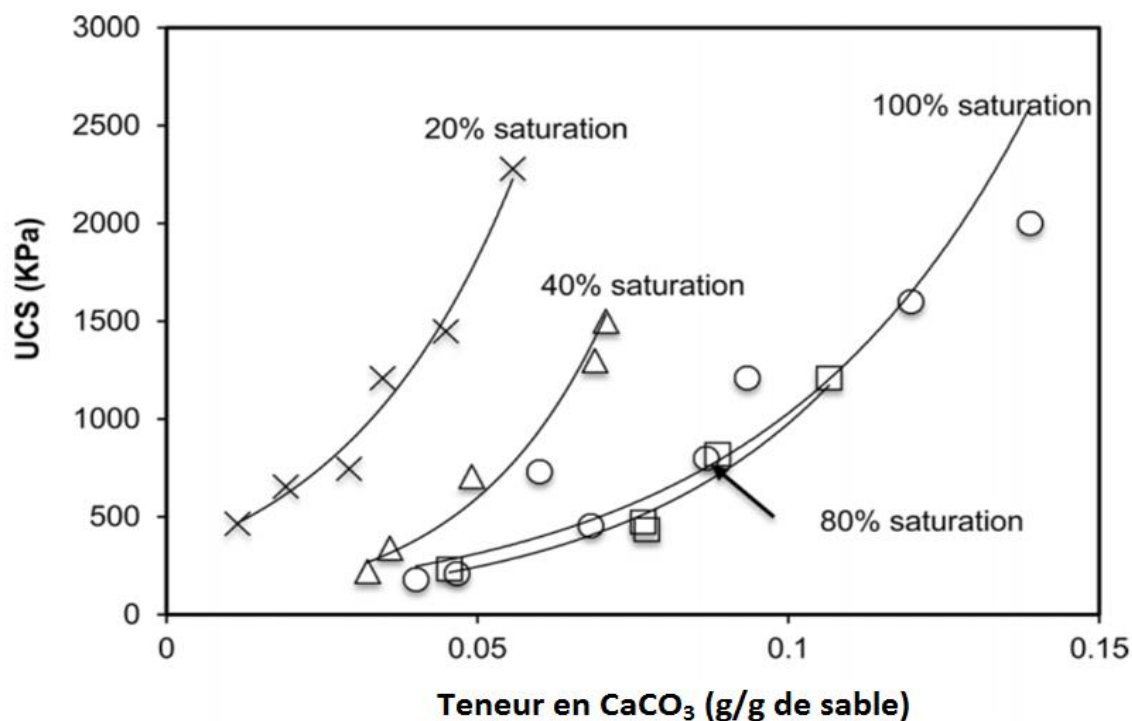


Figure 4.5: Résistance en compression simple en fonction de la teneur de carbonate de calcium L. Cheng et al. (2013)

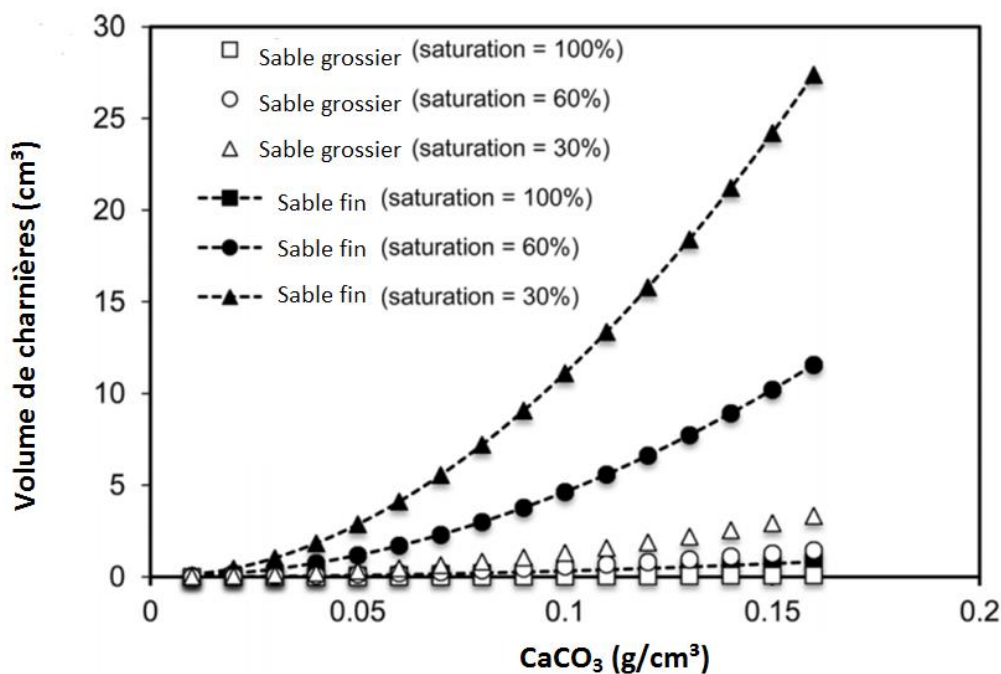


Figure 4.6: Évolution du volume des ponts (cristal précipité entre les grains) en fonction du carbonate de calcium, L. Cheng et al. (2013)

Les travaux de Rhiel (2014) permettent d'établir une équation pour déterminer la résistance en fonction de la teneur et de la saturation, l'équation est comme suit :

$$UCS = \frac{100}{\sqrt{S}} * (e^{\left(\frac{20}{S} * \%\right)} - 1) \quad (4-2)$$

Avec S la saturation et % la teneur en carbonate de calcium.

La corrélation de cette équation avec les courbe à 40% et 80% est élevée (R supérieure à 0.95), elle est plus faible pour S=20% (R=0.82) et ne semble pas tout-à-fait adaptée pour S=100% (R=0.44).

Enfin, les travaux de St-Onge (2016) permettent d'avancer l'éventualité d'un plateau, passé une certaine teneur en calcite. Les résultats de cet auteur présentent une courbe pour la cohésion et pour l'angle de frottement.

La formule utilisée pour calculer ces caractéristiques est la suivante :

$$\phi' = A_1 \frac{e^{A_2(\xi - A_3)} - 1}{e^{A_2(\xi - A_3)} + 1} + A_4 \quad (4-3)$$

$$c' = B_1 \frac{e^{B_2(\xi - B_3)} - 1}{e^{B_2(\xi - B_3)} + 1} + B_4 \quad (4-4)$$

Où ϕ' est l'angle de frottement interne, ξ est la teneur en calcite, en % et c'est la cohésion.

Les valeurs pour les paramètres A et B sont dans le tableau suivant :

Tableau 4.4: Paramètres des équations 4-3 et 4-4, extrait de St-Onge (2016)

Paramètres				
ϕ'	$A_1=4.5$	$A_2=35$	$A_3=0.14$	$A_4=35.25$
c'	$B_1=67$	$B_2=25$	$B_3=0.09$	$B_4=65.5$

Bien que l'évolution de la résistance à la compression simple ne soit pas présentée, il semble pertinent d'émettre l'hypothèse que cette caractéristique du sol devrait suivre la même tendance.

En résumé, pour un faible pourcentage de CaCO_3 , les cristaux restent assez petits et les ponts qu'ils constituent sont donc moins résistants. Lorsque la réaction de précipitation se poursuit, les cristaux, donc les ponts, grossissent, ce qui augmente la résistance de façon exponentielle

jusqu'à un certain pourcentage. À ce moment, l'augmentation de la résistance n'est plus linéaire avec l'augmentation du pourcentage.

La Figure 4.7 représente ces explications en personnalisant les paramètres des courbes de St-Onge (2016), c'est-à-dire en observant l'évolution de la résistance et en prenant en compte la résistance maximale de la calcite pure.

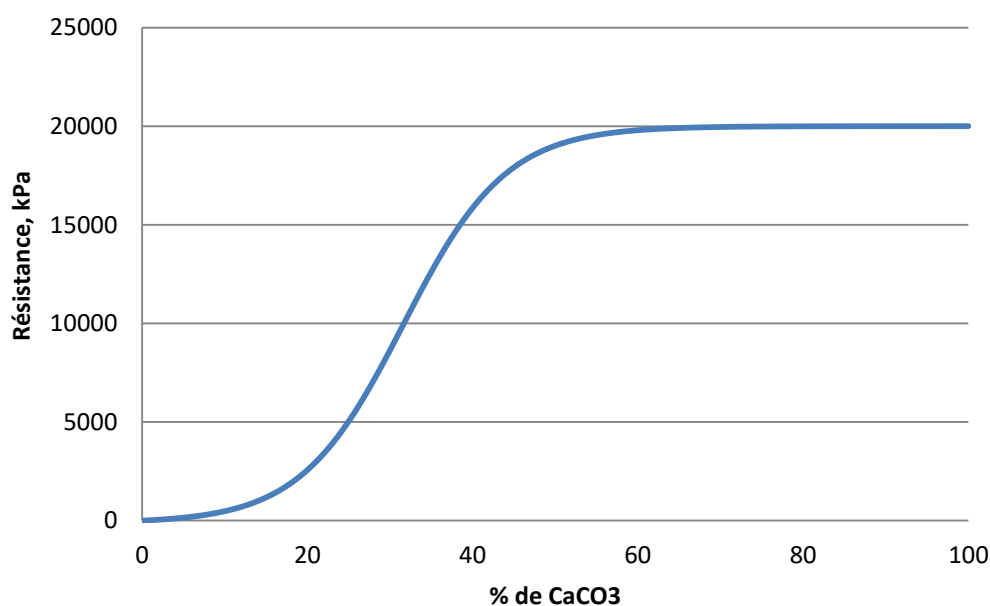


Figure 4.7 : Exemple type d'évolution de la résistance selon l'augmentation du % de CaCO₃.

Comme les mesures de pourcentage de carbonate de calcium de cette recherche sont inférieures à 15% nous allons ensuite considérer seulement la portion de croissance exponentielle de la courbe.

En considérant les explications fournies plus haut ainsi que cette figure, il devient alors possible de tracer une courbe de « tendance » sous forme exponentielle. Dans le cadre des travaux présentés ici, nous travaillons à de faibles teneurs en calcite et nous ne retiendrons que la première partie de la courbe, soit :

$$UCS = 70 * \exp(0.26 * \% - 0.3) - 51.86 \quad (4-5)$$

Avec % le pourcentage de carbonate de calcium.

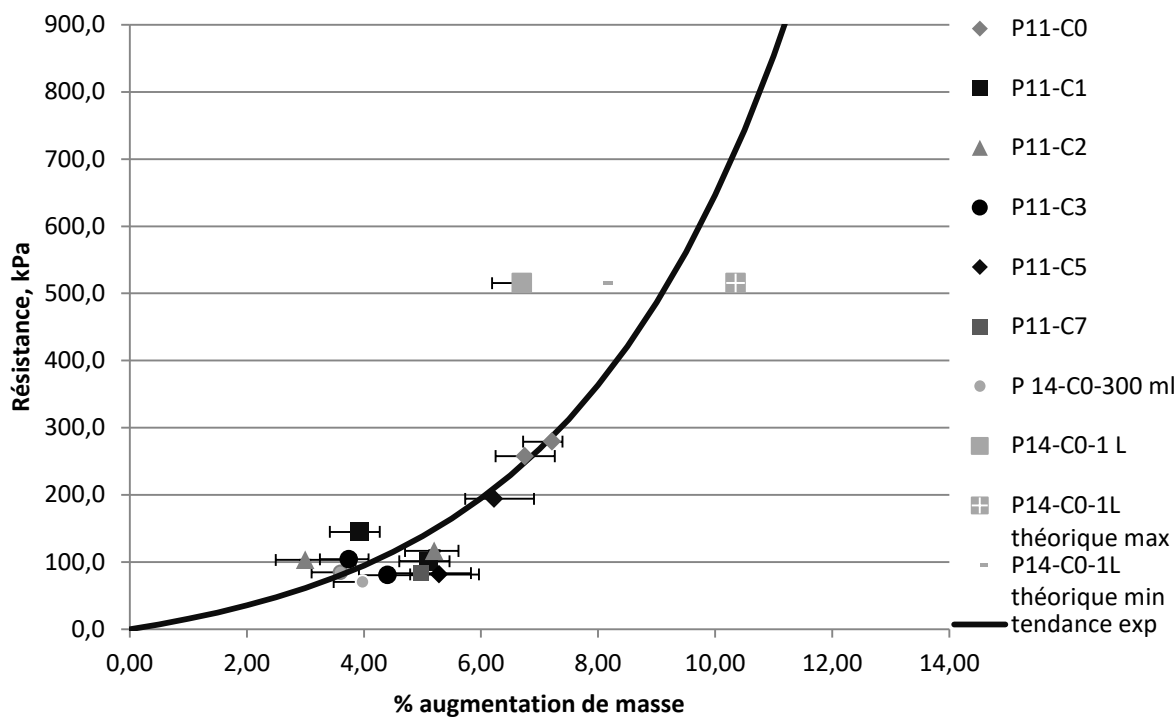


Figure 4.8: Résistance atteinte au test de compression simple en fonction du % de CaCO_3 mesuré.

L'observation de cette figure permet de corroborer l'augmentation de la résistance mesurée avec le pourcentage de CaCO_3 . En effet, les doublons semblent de parts et d'autres de la courbe comme peuvent en justifier les moyennes, lorsque possibles, présentées sur la Figure 4.9. On remarque que seuls les échantillons du cycle 5 s'éloignent de la courbe de tendance.

La courbe calibrée expérimentalement est unique, peu importe le nombre de cycles de gels-dégels. À partir du pourcentage de carbonate de calcium, il semble possible de déduire la résistance des échantillons sans que celle-ci ne soit endommagée par le gel.

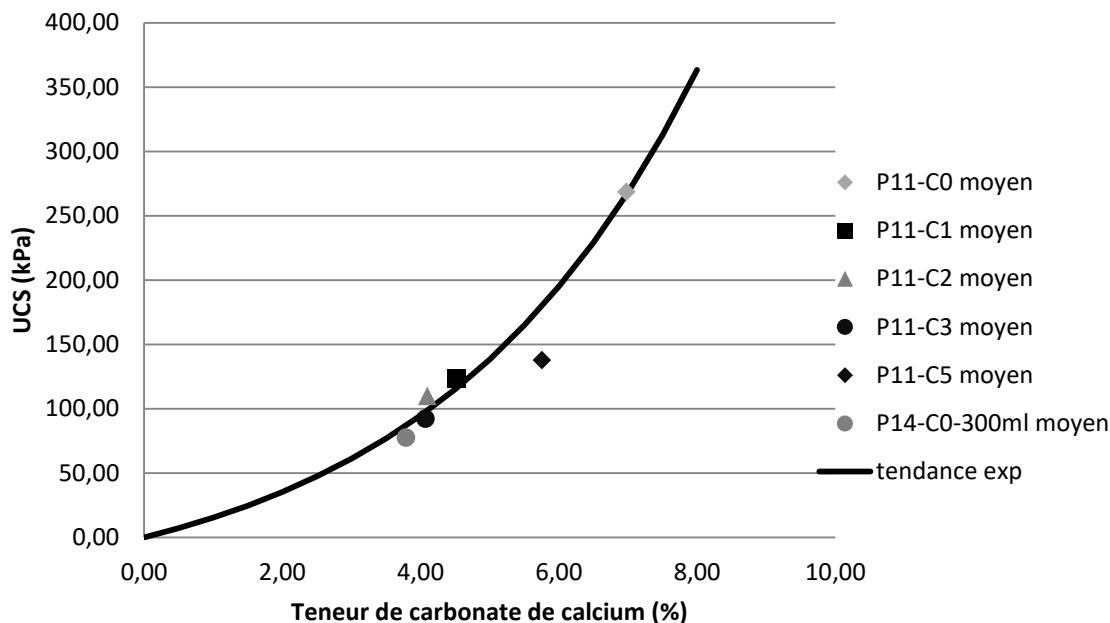


Figure 4.9: Moyenne des résultats en compression simple et modèle

4.1.3 Module d'Young

4.1.3.1 Détail des essais de compression simple

4.1.3.1.1 Protocole 11

Les Figures 4.10 à 4.17 présentent les courbes contrainte-déformation des essais de compression simple. De ces courbes, il est possible d'extraire le module d'Young de chacun des échantillons en se basant sur la partie élastique de la courbe. Ces observations nous permettent de comprendre davantage comment se comporte l'échantillon et de comparer les résultats avec d'autres sols ou roches, par exemple.

La déformation de l'échantillon se traduit par le rapport entre le déplacement vertical de la presse et la hauteur initiale de l'échantillon : $\frac{\Delta H}{H_{initial}}$

Avec ces courbes et selon l'ASTM D 7012-07, il est possible de déterminer le module d'Young moyen. C'est la pente, dans une section droite, de la courbe. Dans les courbes suivantes, cette pente sera tracée en noire. Il est parfois délicat de trouver une section linéaire satisfaisante donc des approximations sont faites.

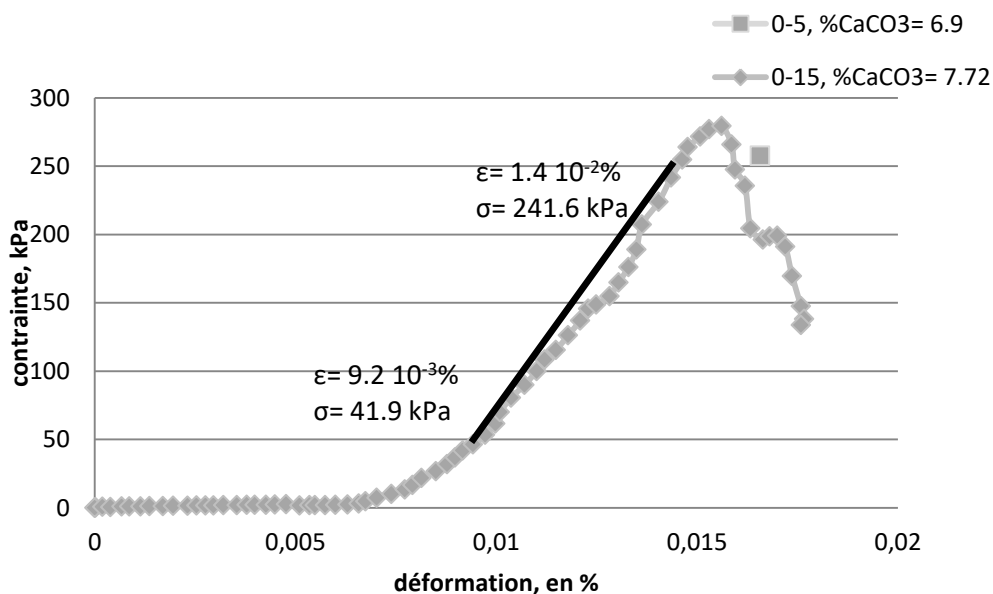


Figure 4.10: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons n'ayant pas subi de cycle de gel-dégel.

La courbe de l'échantillon 0-5 s'explique par un problème lors de l'acquisition des données, seul le point de rupture a pu être récupéré

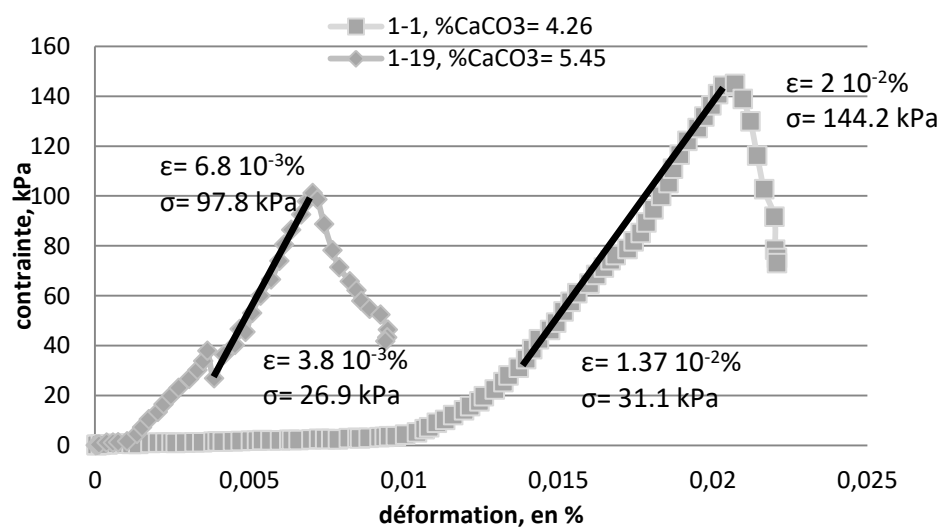


Figure 4.11: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 1 cycle de gel-dégel.

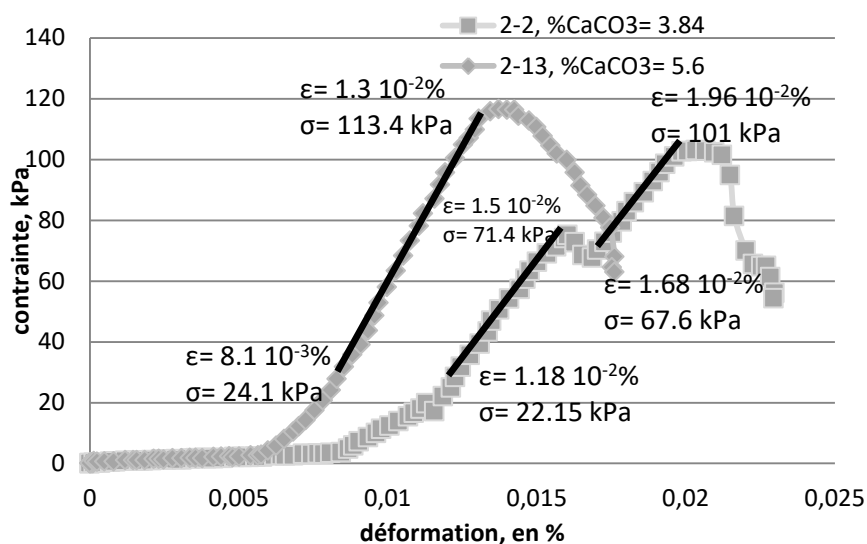


Figure 4.12: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 2 cycles de gel-dégel.

La courbe de l'échantillon 2-2 présente une rupture nette dans l'évolution de la contrainte en fonction de la déformation. Les pentes des deux droites ainsi formées sont différentes (initialement 15.39 MPa, puis 11.93 MPa). L'échantillon semble alors soudainement devenir plus facile à déformer. L'explication de ce phénomène peut se trouver dans le comportement des ponts de carbonate de calcium entre les grains de l'échantillon soumis aux contraintes. Il est envisageable que certains ponts moins élastiques se détruisent pendant le test, d'autres ponts, plus résistants et plus élastiques interviennent ensuite pour reprendre les efforts jusqu'à la rupture de l'échantillon.

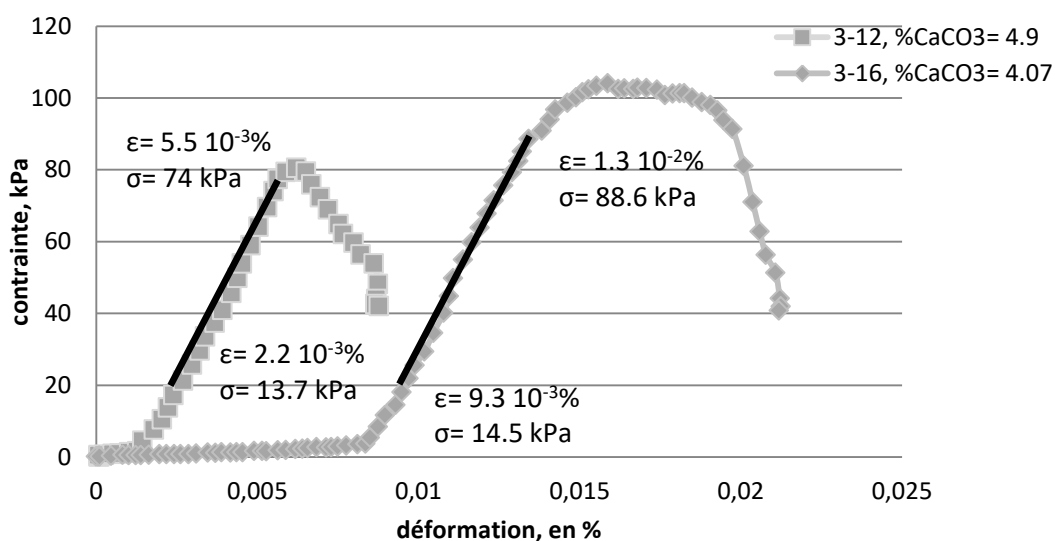


Figure 4.13: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 3 cycles de gel-dégel.

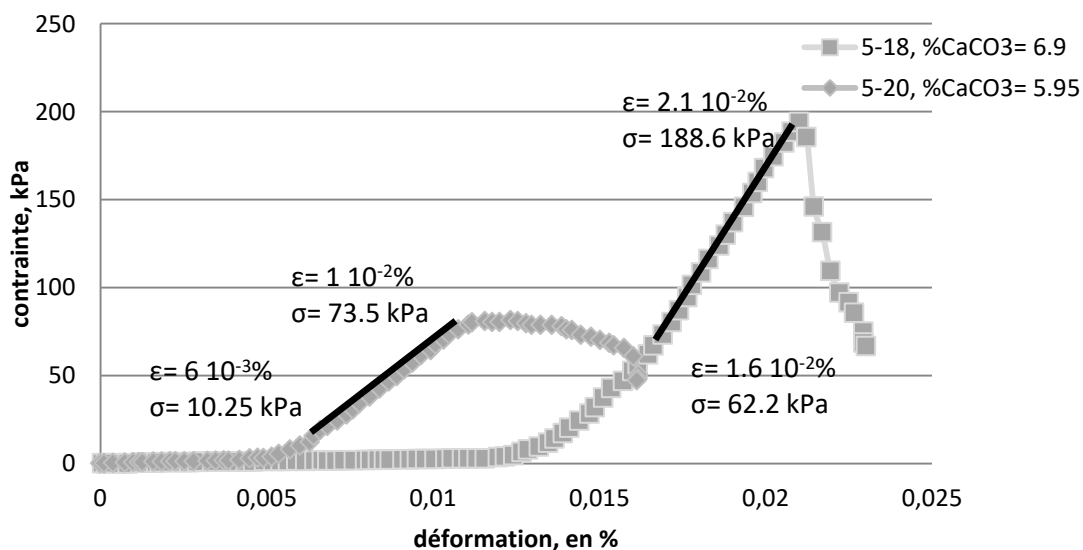


Figure 4.14: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour les échantillons ayant subi 5 cycles de gel-dégel.

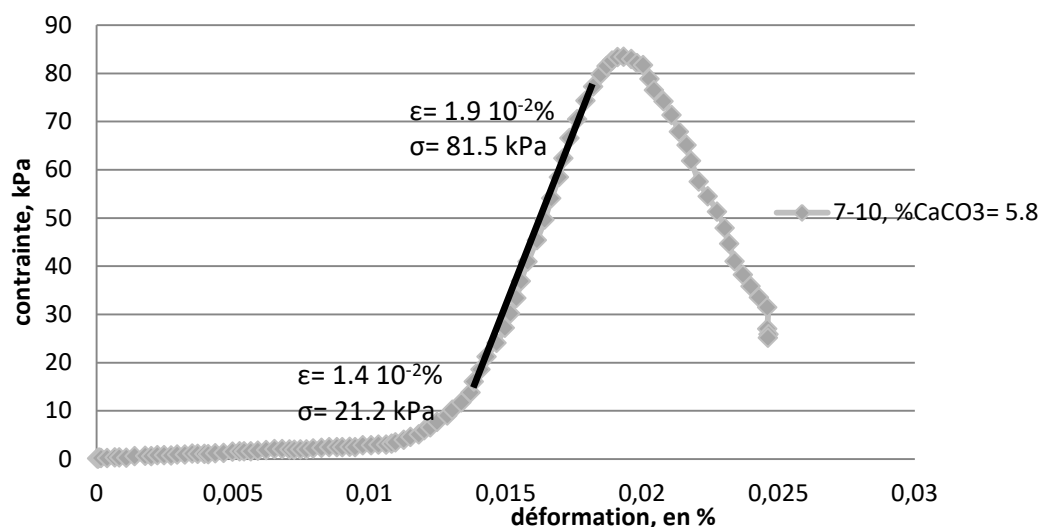


Figure 4.15: Courbe de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour l'échantillon ayant subi 7 cycles de gel-dégel.

Tableau 4.5 : Calcul du module d'Young pour les échantillons testés en compression simple.

Cycle	Échantillon	E, kPa	Moyenne E, MPa
0	15	41 600	41.6
	5	N/A	
1	1	17 950	20.79
	19	23 630	
2	2	15 390 11 930 moyenne : 13 660	15.93
	13	18 220	
3	12	18 270	19.15
	16	20 030	
5	18	25 280	18.96
	20	12 650	
7	10	12 060	12.06

4.1.3.1.2 Protocole 14

Les détails des essais de compression simple pour les échantillons du protocole 14 sont les figures suivantes :

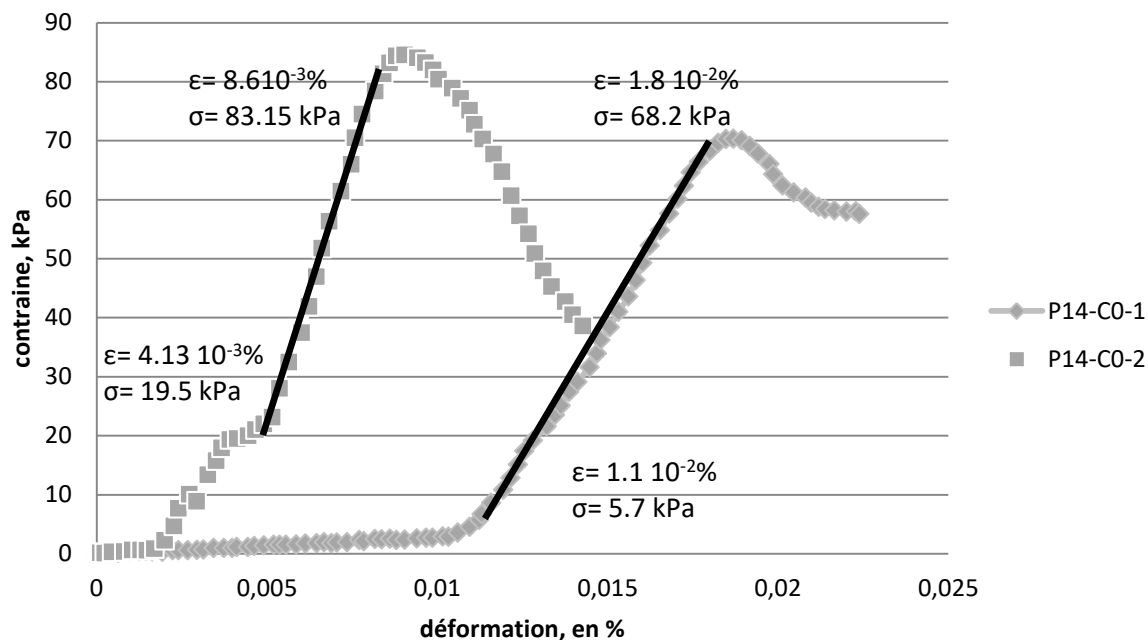


Figure 4.16: Courbes de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour l'échantillon n'ayant pas subi de cycles de gel-dégel. Volume de cimentation de 300 ml.

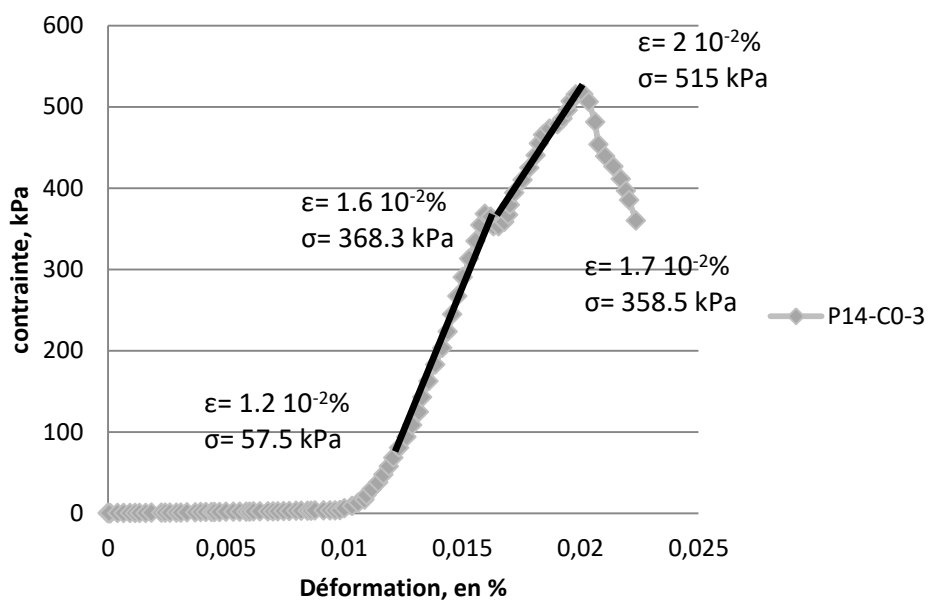


Figure 4.17: Courbes de la contrainte appliquée au sol en fonction de la déformation pour l'échantillon n'ayant pas subi de cycles de gel-dégel. Volume de cimentation de 1000 ml.

Les résultats des calculs pour déterminer le module d'Young sont résumés dans le tableau ci-après

Tableau 4.6: Résultat de calcul du module d'Young pour les échantillons du protocole 14

Échantillon	E, kPa	Moyenne E, Mpa
1	8 928	11,57
2	14 207	
3	77 700 et 52 166	64.93

En reprenant la Figure 4.5 et en utilisant la Figure 4.18, il est possible de suivre le même raisonnement pour l'étude du module d'Young que pour l'analyse de la résistance en fonction de la teneur en calcite et de la saturation. On observe que les courbes suivent encore des exponentielles pour les valeurs que nous retrouvons dans ce mémoire (entre 3 et 10%).

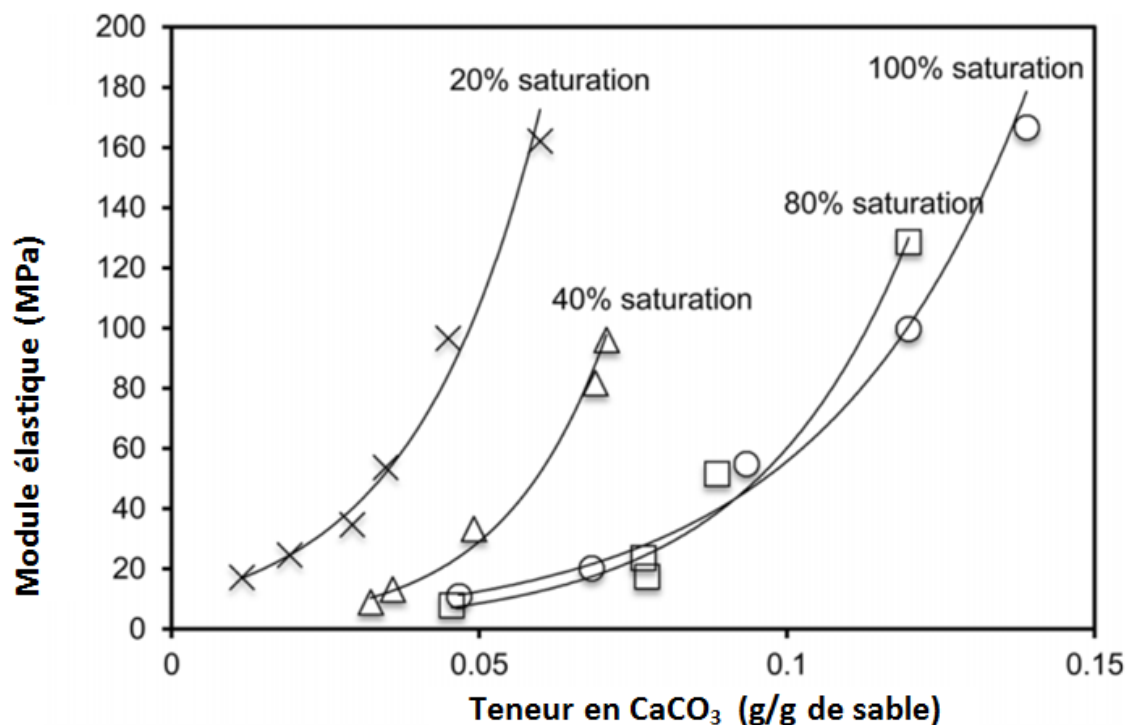


Figure 4.18: Relation entre le module élastique et la teneur en calcite, tiré de L. Cheng et al. (2013)

Compte tenu de ces deux figures, il semble pertinent de supposer que l'allure de l'évolution du module élastique en fonction de la teneur en précipité devrait suivre une tendance similaire pour 70%, saturation utilisée ici.

La Figure 4.19 permet de mettre de l'avant une telle courbe. On retrouve, comme à la Figure 4.8, que les points sont de parts et d'autres de la courbe, ce qui indique que les cycles gels-dégels ne semblent pas avoir d'influence sur cette caractéristique. Une fois de plus, les résultats concernant l'échantillon traité avec le protocole 14 et avec 1L de solution de cimentation semblent être éloignés de la courbe de tendance. Cependant, en utilisant les valeurs supposées après l'étude de l'efficacité de la précipitation, l'intervalle « théorique » semble corroborer avec la courbe présentée.

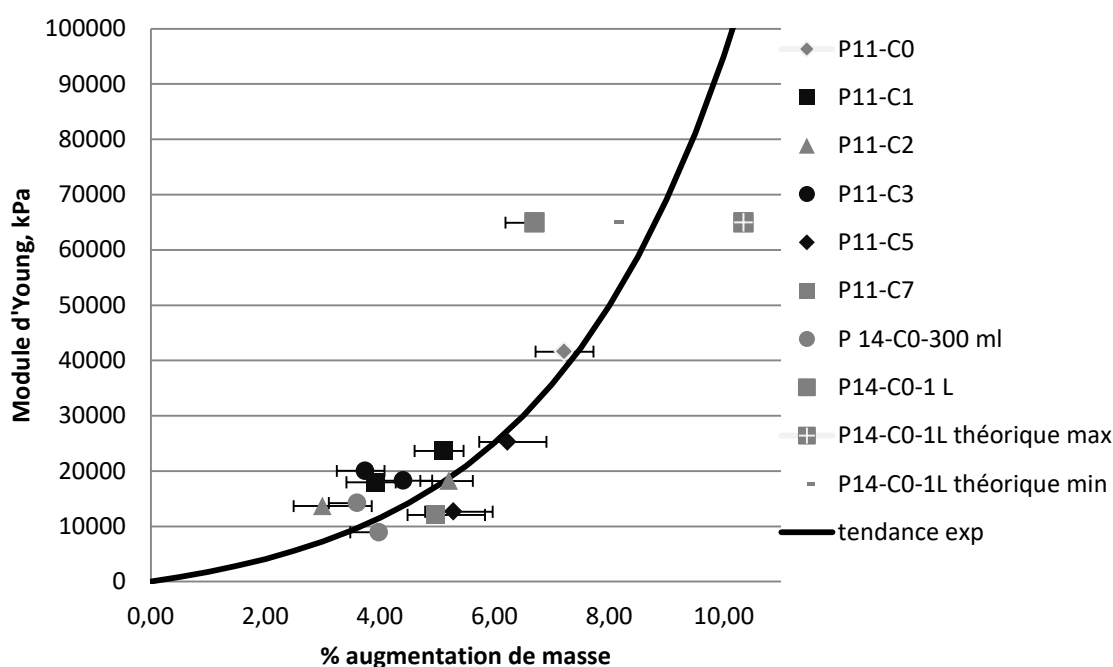


Figure 4.19: Module d' Young obtenu en fonction du % de CaCO_3 .

4.1.4 Cristal de sortie

Afin de déterminer la nature des cristaux recueillis à la sortie des échantillons et leur impact potentiel sur l'environnement, de nouvelles analyses aux rayons X ont été réalisées sur des cristaux prélevés durant les essais.

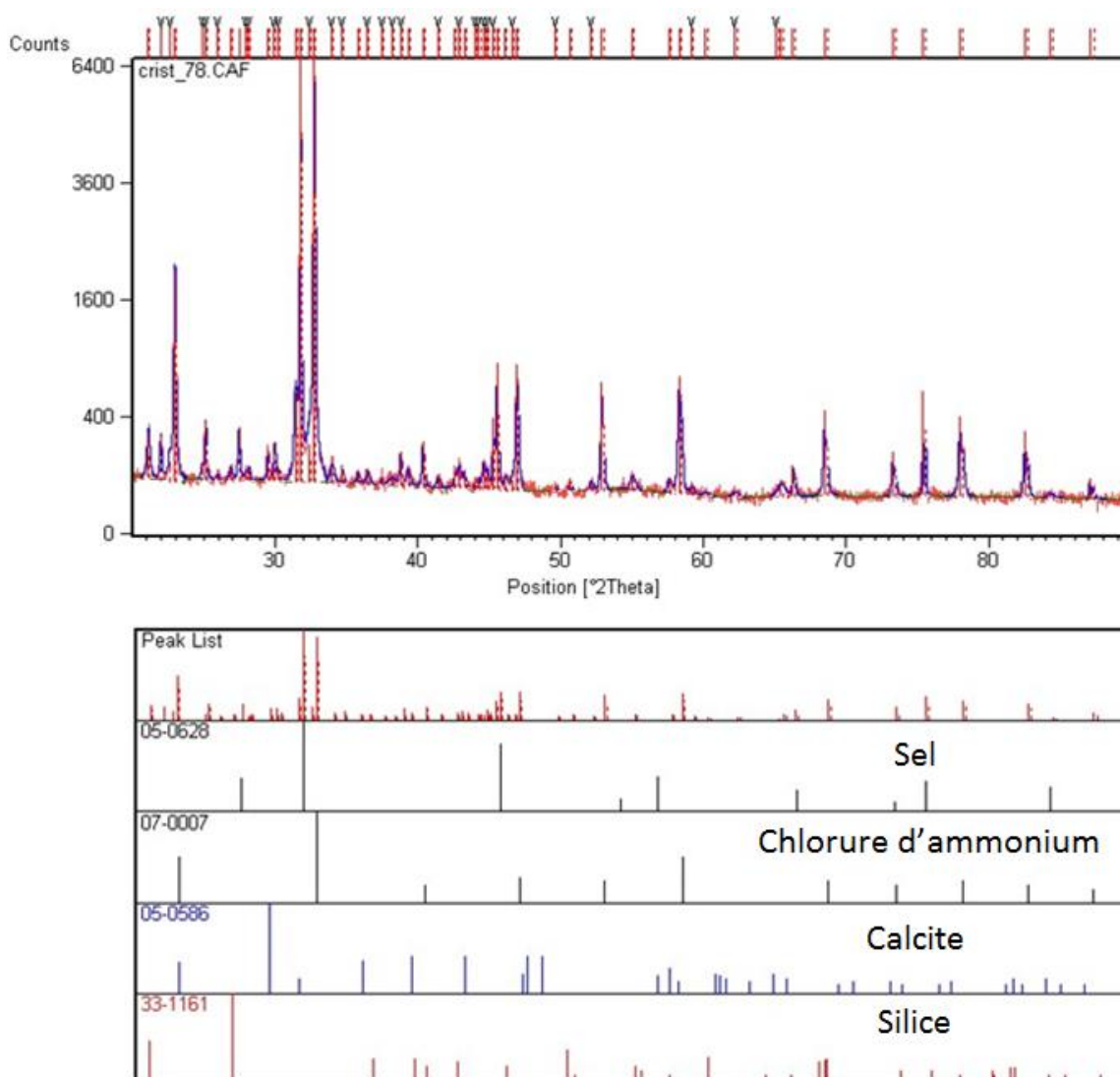


Figure 4.20: Résultats de l'analyse aux rayons X du cristal de sortie

Tableau 4.7: Résultats des rayons X sur le cristal de sortie

Élément	Score	Référence
Sel (NaCl)	53 %	05-0586
Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl)	63%	07-0007
Calcite (CaCO ₃)	30%	33-0268
Silice (SiO ₂)	35%	33-1161

D'après le score et l'étude faite de l'intensité et des pics, les cristaux semblent être autant du sel que du chlorure d'ammonium. Il peut aussi y avoir des traces de calcite, mais il n'y a pas de silice.

Ainsi ce qui s'échappe de l'échantillon représente des éléments potentiellement néfastes pour l'environnement. Ces considérations seront à prendre en compte et sont discutées un peu plus loin dans le rapport.

4.1.5 Observations microscopiques

La partie qui suit présente quelques images obtenues par microscope électronique à balayage. Ces images permettent de visualiser comment et où se forment les cristaux précipités. Il faut cependant noter que les échantillons observés n'ont pas été lavés avec de l'eau distillée et qu'il reste donc des cristaux de chlorure d'ammonium avec ceux de calcite.

La Figure 4.21 présente les images de l'échantillon O-S, échantillon traité avec le protocole 14 et 300 ml de solution de cimentation, pour environ 4% de carbonate de calcium. Le sous-échantillon observé a été pris plutôt au centre de l'échantillon pour une teneur locale d'environ 3%.

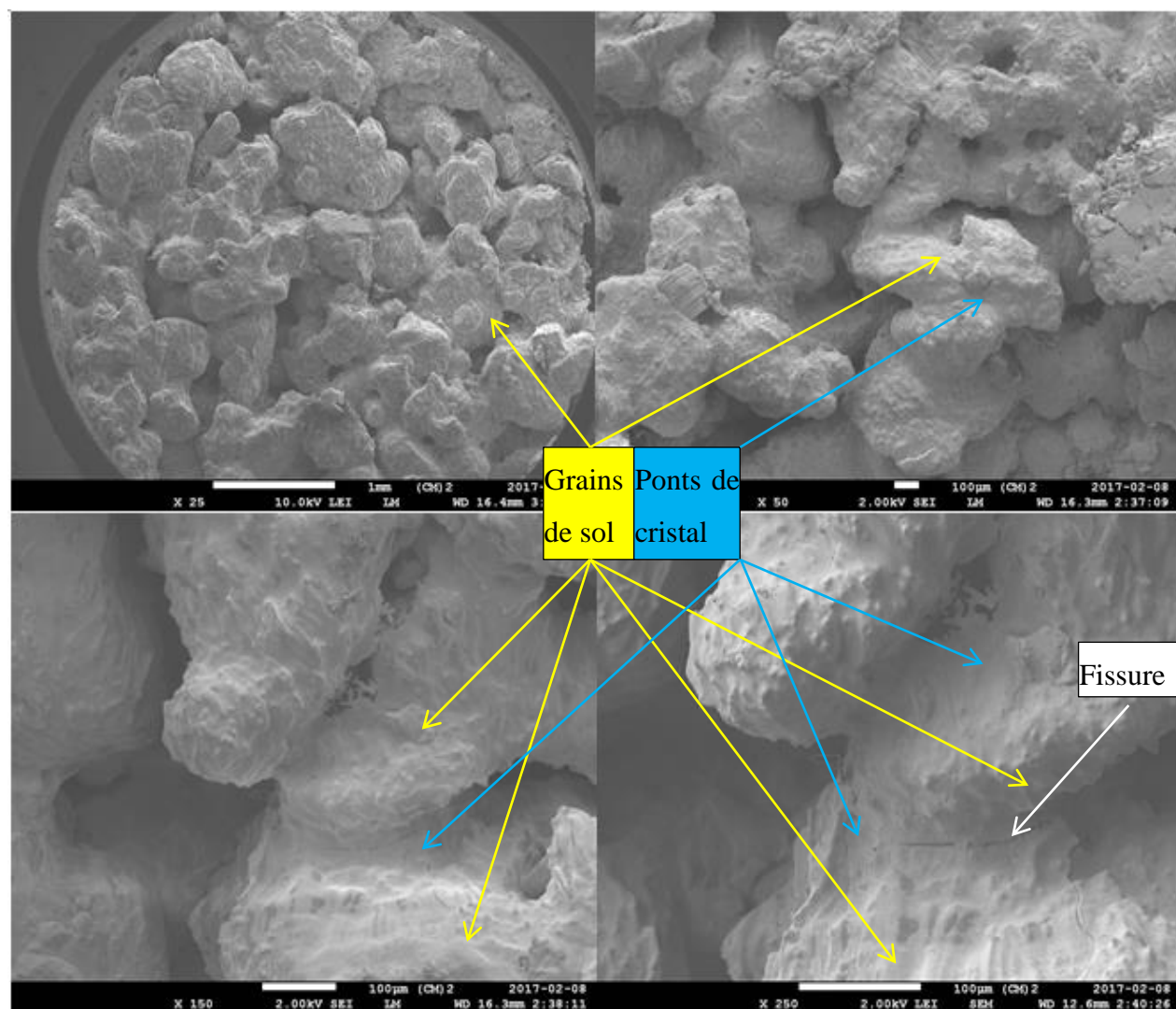


Figure 4.21: Exemples d'images de l'échantillon O-S

Ces images mettent en évidence la formation de ponts entre les grains. On y observe ainsi un pont qui semble brisé et il devient alors possible de comprendre comment s'effectue la rupture de l'échantillon. Après la rupture de la zone la plus faible du pont, la calcite précipitée à la surface des grains semble conférer un angle de frottement interne plus important que celui d'un sable non-traité.

Ces images permettent aussi de comparer les résultats avec ceux de L. Cheng et al. (2013)(Figure 2.9). Ainsi, il est remarquable que la rugosité de cet échantillon ressemble à celle obtenue par L. Cheng et al. dans le cas d'un traitement à 20% de saturation.

La Figure 4.22 présente des images de l'échantillon 0-C : traitement par le protocole 14, avec 1L de solution de cimentation, pour 6.7% de carbonate de calcium mesuré. Le sous-échantillon observé a été prélevé vers le haut de l'échantillon, pour une teneur locale d'environ 7.8%.

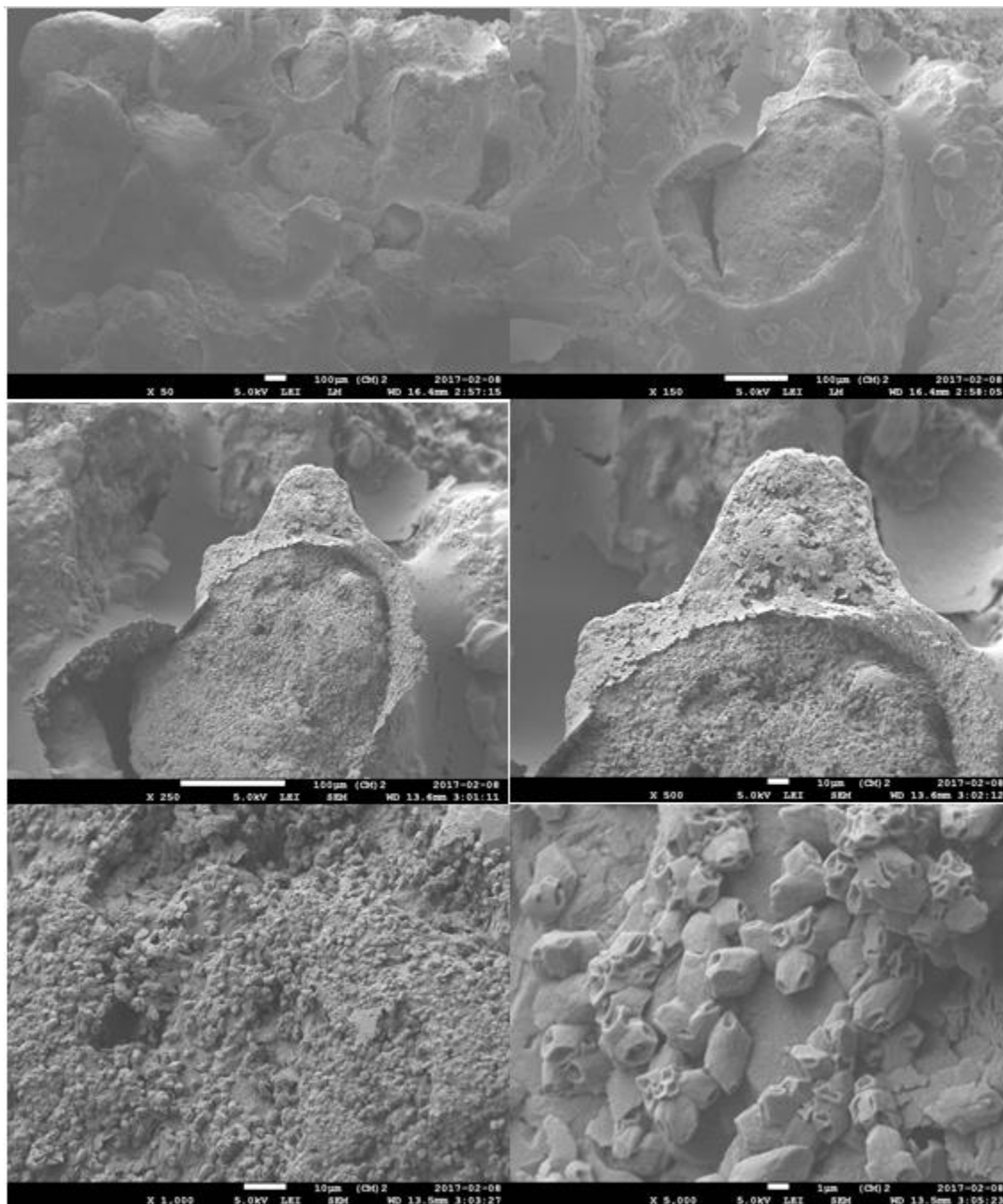


Figure 4.22: Exemples d'images pour l'échantillon 0-C

Les images de cet échantillon montrent que le cristal s'est précipité en « couche » et non en ponts comme l'échantillon précédent. Il est probable que ces différences soient la conséquence d'une

teneur différente. Une faible teneur serait à l'origine de ponts, et une teneur plus importante pourrait être à l'origine d'une précipitation en couches.

Une autre hypothèse serait que ces différences ne soient pas directement liées à la teneur en carbonate de calcium, mais à la saturation. L'échantillon 0-C semble être plus proche de l'échantillon type à une saturation de 100% de L. Cheng et al. (2013). Ce résultat résulterait ainsi de l'hétérogénéité de la saturation dans le sol et d'une tendance à favoriser la précipitation à la surface de l'échantillon.

Les images permettent aussi d'illustrer la formation de cristaux autour des bactéries. Ces cristaux ressemblent à des rhomboèdres et sont plus massif que les bactéries (d'un facteur 2).

4.2 Discussion

4.2.1 Comparaison

Pour comparer efficacement la méthode développée ici avec celles d'autres auteurs, les informations principales sont regroupées dans le Tableau 4.6 et sont détaillées dans les parties suivantes.

Tableau 4.8: Tableau comparatif d'éléments principaux entre ce rapport et la littérature

Auteur	Taille de l'échantillon	Volume injecté	Teneur de CaCO ₃	Résistance mesurée
(Liang Cheng & Cord-Ruwisch, 2012)	30 cm de long, 4.5 cm de diamètre	890 ml	0.12 g/cm ³	390 kPa
(Chu et al., 2012)	N/A	N/A	Entre 20% et 5%, croute supérieure	N/A
(Gurbuz et al., 2015)	70 mm de hauteur pour 140 mm de diamètre	N/A	Environ 10% pour un sol à 100% de quartz	N/A
(Yang & Cheng, 2013)	55 mm de diamètre, 160 mm de hauteur	N/A	0.06-0.065 g/g sable (pour s= 65%)	+/- 850 kPa (pour S= 65%)
(Dhami et al., 2012)	3 pouces de diamètre pour 15 de haut	400 ml	Environ 15%	Au moins 10 MPa (pas de sol utilisé mais des cendres volantes)
(Harkes et al., 2010)	Diamètre de 6.6 cm pour 18 cm de haut	variable	N/A	N/A

4.2.1.1 Efficacité de la précipitation et résistance

La méthode de traitement ayant été développée spécifiquement pour le présent projet, il n'est pas possible de comparer directement les résultats avec une autre étude similaire. L'un des traitements le plus ressemblant est celui de Cheng (2013), principalement à cause des conditions

non-saturées, mais celui-ci utilise une pompe à vide pour garder un degré de saturation constant, ce qui permet une précipitation plus homogène, donc potentiellement une meilleure résistance. Les résultats sont flagrants, pour une teneur d'environ 6%, la résistance atteinte dans leurs travaux est environ 4 fois plus importante que pour les échantillons de ce mémoire (hormis l'échantillon autour de 6% du P14). D'autres traitements similaires, ceux de Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2014) et (2012), sont commentés plus loin.

En comparant les autres méthodes, on se rend compte que les résultats permettent de comprendre un peu mieux le comportement des échantillons avec un faible pourcentage de CaCO_3 . La littérature présente souvent des résultats avec plus de 5% et certains des résultats ici étaient plus proche des 3-4%. Ce pourcentage est probablement lié au faible volume de cimentation injecté (500 ml et 300ml).

Les différents essais de Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2014), sur une colonne de 2m de long pour 55 cm de diamètre, ont aussi montré par moment une teneur assez basse comme l'indique la Figure 4.23.

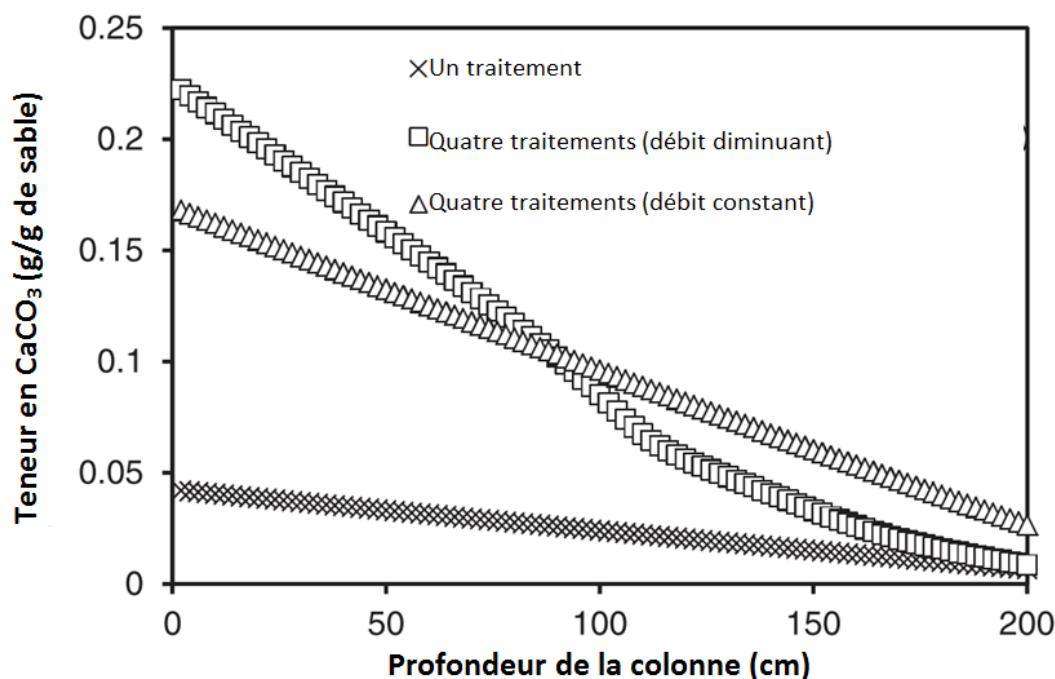


Figure 4.23: Courbe de la teneur en CaCO_3 en fonction de la profondeur pour un nombre de traitements différents

Bien que la méthode de traitement utilisée par ces auteurs soit différente de celle de ce rapport (principalement dans le placement des bactéries), on remarque que pour un seul traitement de 6 600 ml (avec solution bactérienne comprise), soit environ 330 ml pour un échantillon de 10 cm de hauteur (donc pour un volume d'injection très similaire à celui utilisé ici), le résultat est un peu en dessous de 5% de carbonate de calcium, ce que nous avons pu retrouver ici.

En revanche, l'homogénéité des résultats de Liang Cheng and Cord-Ruwisch (2014) est supérieure à ce qui a été déterminé ici. Dans notre cas, la couche supérieure des échantillons est d'environ 8% et celle inférieure de 2% (la variation est sur une longueur de 10 cm), alors que les auteurs mentionnés avant ont une variation de teneur très faible sur les 10 premiers centimètres. Les causes de ces différences sont variées, la première étant le débit, la méthode d'injection de bactéries et enfin la masse volumique de l'échantillon (1.625 g/cm^3 dans l'article contre environ 1.450 g/cm^3 dans ce rapport).

D'un point de vue résistance, une certaine hétérogénéité se ressent dans les courbes de la Figure 4.24, la résistance du segment supérieur (entre 0 et 500 mm) étant passablement plus importante que celle des couches inférieures. Cependant, la teneur en carbonate de calcium et d'autres paramètres sont indéterminés pour ces résultats, les auteurs souhaitant seulement observer la différence d'homogénéité pour une variété d'injections.

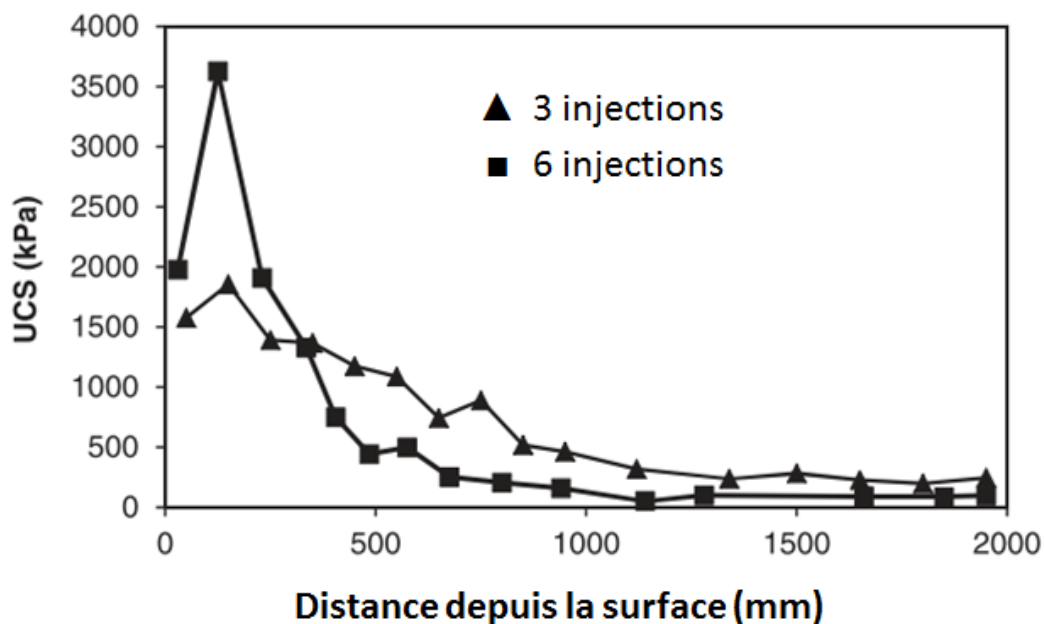


Figure 4.24: Résistance à la compression simple de segment de la colonne de 2m.

Finale­ment, les résultats pré­sen­tés dans ce rap­port mon­trant qu'il est pos­si­ble d'at­teindre une pré­ci­pi­ta­tion et une cer­tain­e ré­sis­tance pour un sol lâche, avec peu de res­sur­ces et un pro­to­cole simple à mettre en place.

Bien que les résis­tances dé­vel­oppées dans les tra­vaux pré­sen­tés ici soient assez loin de celles pré­sen­tes dans la lit­té­ra­ture, il est bon de sou­li­gner à nou­veau que la densité du sol était la plus faible pos­si­ble, ce qui peut consi­dé­ra­ble­ment di­mi­nuer le nom­bre de con­tacts entre les grains et donc de zones propices à la cal­ci­fi­ca­tion.

4.2.1.2 Module d'Young

Les résultats des expériences mon­trant que le tra­ite­ment rigidifie les échan­til­lons, ce qui est cohérent avec la pré­ci­pi­ta­tion d'un solide entre les grains. La courbe d'évo­lu­tion du module d'Young en fonction de la teneur en CaCO_3 est simi­laire dans son allure expo­nen­tielle avec l'évo­lu­tion de la résis­tance en fonction de la teneur.

En­core une fois, les essais de L. Cheng et al. (2013) mon­trant une évo­lu­tion simi­laire du module d'Young (cf Figure 4.18), mais pour d'autres saturation que celle utilisée ici. La courbe pour $S_r=80\%$, saturation assez proche de 70% com­mence avec un pourcentage légèrement inférieur à 5%. Les résultats pré­sen­tés pré­cé­dem­ment per­mettent alors de com­pren­dre le com­por­te­ment pour des pourcentages plus faibles. Ce­pen­dant, on note ici que les valeurs des modules sont assez simi­lares (autours de 20 MPa pour près de 5%), et la courbe de ten­dance calibrée est aussi sem­blable, avec E ap­pro­chant 100 MPa pour environ 10% de CaCO_3 . Cette com­pa­raison appuie alors le modèle calibré dans ce mé­moire. En re­prenant les points de ces auteurs et en calibrant la formule élaborée par Rhiel (2014) (Équation 4-2), on observe une res­sem­blance frappante entre leurs résultats et ceux pré­sen­tés ici, même si la méthode de tra­ite­ment est différente. La courbe extrapolée permet en plus de com­pren­dre le com­por­te­ment pour les faibles teneurs en carbonate de calcium et ajoute une autre valeur de saturation aux résultats.

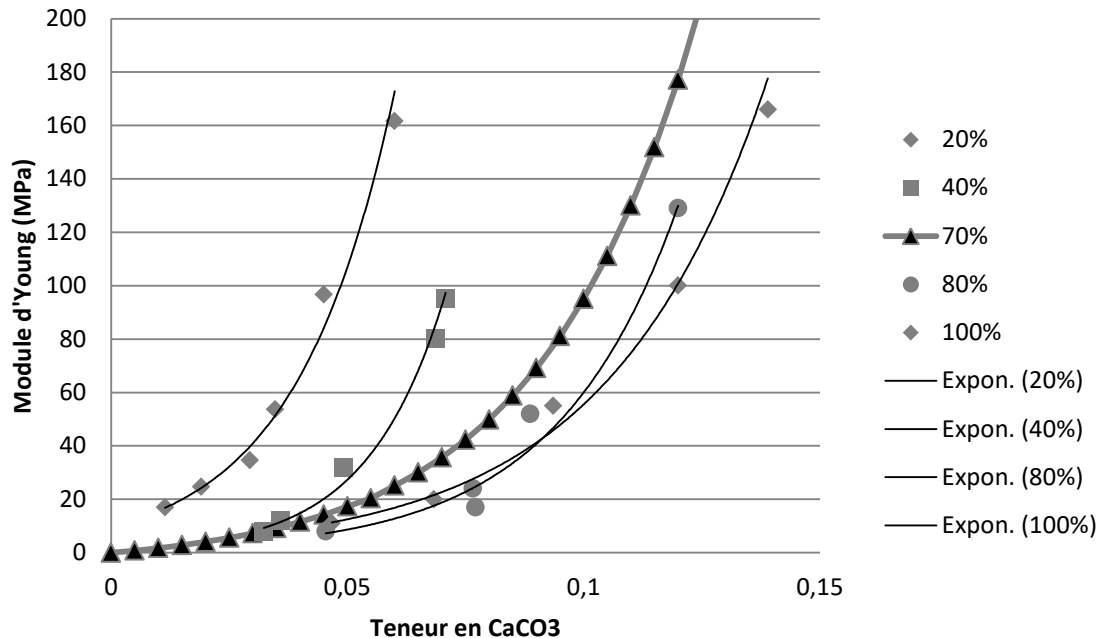


Figure 4.25: Évolution du module élastique en fonction de la teneur en CaCO_3 pour différentes saturation, adapté de L. Cheng et al. (2013) .

4.2.2 Pertinence du traitement face aux cycles gel-dégel

Pour identifier si les cycles gels-dégels ont eu un effet sur les échantillons, les résultats présentés au chapitre précédents ont été analysé extensivement. La recherche d'un invariant, ou d'une courbe, utilisant les paramètres suivants : masse volumique des échantillons, pourcentage de carbonate de calcium, résistance en compression simple et nombre de cycles de gels-dégels, nous a permis de conclure sur les courbes présentées à la Figure 4.8 et 4.19. Tous les points se situent sur la courbe, peu importe le nombre de cycles de gel-dégel subits par les échantillons.

Face à ce constat, et pour les échantillons utilisés, donc avec une teneur en carbonate de calcium relativement faible, il est possible d'avancer que les cycles gel-dégel ont peu d'effet sur un échantillon traité par biocalcification.

Comme expliqué dans le chapitre 3, les cycles répétés ont un impact sur les échantillons (de plus en plus de grains se détachent, échantillons à 10 cycles coupés en deux), mais aucun lien n'a encore pu être fait entre les cycles et la perte de résistance. Le détachement des grains a sans doute un impact très superficiel. Les grains, peu cimentés, des bords de la surface supérieure ont

tendance à se détacher plus facilement. En ce qui concerne la coupure au centre, une hypothèse d'avancée des deux fronts de gel a été émise.

Ces résultats sont en accords avec ceux de L. Cheng et al. (2013), qui avait trouvé une perte de l'ordre de 10% en résistance seulement, pour des échantillons avec une résistance originelle de 800 kPa (pour une saturation de 65%).

4.2.3 Pistes d'optimisation du traitement

4.2.3.1 In/Homogénéité du traitement

4.2.3.1.1 Saturation de l'échantillon

Le traitement actuel des échantillons, donc avec une saturation inférieure à 100%, induit une non-homogénéité dans la répartition de cette saturation au travers du sol. Le sol a une capacité de rétention qui lui est propre, mais la répartition des liquides dans le sol ne pourra pas être homogène, il y aura plus de liquide dans la partie basse que dans la partie haute.

Il serait intéressant de se pencher sur cette répartition au travers de l'échantillon et sur son influence. Pour l'instant, avec la littérature et les essais, il est envisageable que la partie basse de l'échantillon soit saturée (au maximum de rétention du sol) au contraire de la partie supérieure. Quant aux impacts sur l'homogénéité de la précipitation, il est fort possible que la saturation plus élevée dans le bas diminue l'efficacité de la précipitation, les cristaux pouvant se former ailleurs qu'autour et entre les grains.

Un autre facteur possible de la non-homogénéité des échantillons est le manque de nutriments. Les échantillons du protocole 14 avec 1L de cimentation ont une répartition de carbonate de calcium plus uniforme, même s'il y a un pourcentage plus faible au milieu. En raison du débit relativement lent, il est envisageable que les solutions de cimentation (et donc de fixation) soient principalement utilisées par les bactéries en haut de l'échantillon, donc il restera moins de réactifs pour le reste de l'échantillon. Cette hypothèse est cependant mise en porte-à-faux par les calculs d'efficacité de la précipitation, si la partie haute de l'échantillon prenait effectivement trop de ressources par rapport au reste, il est probable que l'efficacité soit plus importante (car plus de réactifs seraient utilisés).

4.2.3.1.2 Différence entre deux échantillons

Les différents graphiques présentent des résultats souvent très disparates, principalement du point de vue de l'augmentation de masse, ou de la teneur en carbonate de calcium (qui sont à peu de chose près identiques). L'explication de ces différences provient peut-être du traitement physique effectué. Les échantillons sont tous réalisés en même temps, ils sont mélangés les uns après les autres, puis, cimentés deux par deux. Avec un débit de 120 ml/h, plusieurs heures peuvent s'écouler entre l'injection de 2 échantillons du même lot, même pour la fixation. Il est possible que cet écart de temps soit à l'origine des différences de teneur en CaCO_3 car la température des solutions, la réaction d'hydrolyse de l'urée et la précipitation du cristal sont fonction du temps.

Il est aussi imaginable que cette disparité ne soit aussi importante que parce que nous travaillons sur des faibles concentrations de carbonate de calcium. Avec des teneurs plus élevées, les écarts seraient vraisemblablement toujours présents en valeur absolue, mais la valeur relative à la teneur de l'échantillon serait plus faible, donc la disparité moins importante.

4.2.3.2 Différences entre les essais laboratoires et un éventuel essai terrain

Dans l'éventualité d'un traitement de terrain, le protocole (11 ou 14) présenté devrait pouvoir être applicable. Cependant, la méthode de percolation sera assez différente. Il est envisageable qu'un outil similaire à un arroseur automatique de jardin puisse être utilisé pour cette étape de percolation, dans ce cas, l'homogénéité radiale du terrain sera meilleure que celle d'un échantillon, car toute la surface sera couverte de liquide, contrairement au cas du traitement en laboratoire où seul le centre de l'échantillon était la cible de la percolation. La disparition des effets de bords dus au moule, ainsi qu'une percolation plus uniforme peuvent être la source de la validation des performances de la méthode sur le terrain.

En revanche, dans le cas d'un terrain, il faut s'assurer, entre autres, que le sol sous le sol ciblé pour le traitement possède une perméabilité conséquente pour garder l'effet drainant.

4.2.4 Essais futurs à prévoir

Pour aller plus loin dans les recherches, il serait intéressant d'utiliser le protocole et d'augmenter le volume total de cimentation pour atteindre de plus grandes résistances et ainsi observer la

courbe de l'évolution de la résistance en fonction du pourcentage de carbonate de calcium, notamment à l'approche de la résistance maximale théorique des échantillons.

Des essais exhaustifs sur le débit pourraient permettre d'améliorer le protocole et les résultats. Pour l'instant, seul un débit lent a donné de bons résultats, mais le lessivage à l'acide montre une forte hétérogénéité dans la répartition du carbonate de calcium, il peut y avoir jusqu'à cinq fois plus de calcite dans la partie supérieure de l'échantillon que dans la partie inférieure (cas de l'échantillon 0-Z, cf Tableau 4.3). Tester différents débits et lessiver les échantillons à l'acide est une voie pour trouver un débit optimal.

Dans la lignée de l'homogénéité du pourcentage, analyser en détail la répartition de la saturation dans l'échantillon est une clé potentielle pour comprendre ce phénomène.

Les recherches de ce mémoire ont porté sur un sol non-compacté, donc avec un indice des vides important et potentiellement peu de contacts grain à grain. Compacter le sol à différentes densités pour favoriser les contacts, donc le nombre de pont et ainsi l'efficacité de la précipitation, permettrait de mieux interpoler le comportement du traitement sur un sol donné. Il est significatif de rappeler qu'il est possible d'obtenir une résistance quatre fois supérieure à celle obtenue après les protocoles 11 et 14, avec notamment une augmentation de la densité du sol (L. Cheng et al., 2013).

Enfin, il peut être difficile d'évaluer l'impact d'un tel traitement sur un sol hétérogène, qui est pourtant un type de sols qui se retrouve sur le terrain, donc réaliser des échantillons avec de tels sols permettrait d'accéder à un niveau supérieur de compréhension des impacts du traitement.

Enfin, pour affiner la compréhension des impacts des cycles gel-dégel, faire des essais d'avancer de front de gel devrait donner de meilleurs résultats tout en évitant le sectionnement de l'échantillon au-delà de 10 cycles.

4.2.5 Applications et attention

Le traitement élaboré pendant cette recherche vise à être utilisé sur des routes. Le sol utilisé traité semble avoir peu subi les cycles gel-dégel et il est largement envisageable d'imaginer un traitement sur une route réelle. Un traitement de ce type peut aussi être utilisé dans les zones poussiéreuses (comme des mines) pour diminuer les nuages de poussières, cependant d'autres essais sont à investiguer car la résistance actuelle ne supporterait pas le passage d'un poids lourd.

Une attention toute particulière doit être portée sur les faiblesses de ce traitement, principalement la sensibilité du cristal à l'acide, les pluies acides ou peut-être la fumée des pots d'échappement des engins pourraient dégrader le traitement s'il y a un contact fréquent. D'un point de vue environnemental la présence de chlorure d'ammonium et de sel en sortie du traitement représente un défi qui doit être correctement considéré pour que de tels traitements puissent respecter les lois et règlements environnementaux.

CHAPITRE 5 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les objectifs exprimés au début de ce mémoire étaient d'établir un protocole simple d'utilisation et de comprendre le comportement des échantillons ainsi traités face aux cycles gel-dégel. Les protocoles ainsi élaborés (11 et 14) permettent aux échantillons d'obtenir une teneur en carbonate de calcium entre 3 et 6% pour la plupart. La quantité de liquide de cimentation ayant un rôle important dans la teneur finale, il est possible d'augmenter le volume de cette solution pour atteindre une teneur plus importante et potentiellement une meilleure résistance, au prix éventuel d'une diminution de l'indice des vides. Avec une efficacité de précipitation de l'ordre de 40%, le traitement est relativement homogène pour les échantillons avec un volume important de solution de cimentation, mais reste irrégulier pour ceux avec un faible volume. En bref, les protocoles permettent d'obtenir une calcification modulable selon l'opérateur en faisant varier la quantité entrante de solution.

Les essais de compression simple réalisés après différents cycles de gel-dégel (0, 1, 2, 3, 5, 7) ont démontré l'absence d'impact imputable aux cycles seuls pour les teneurs étudiées, sauf pour le cas particulier des échantillons soumis à 10 cycles. Compte-tenu du mode de rupture des échantillons soumis à 10 cycles, cette observation a été attribuée à un biais expérimental résultant de l'avancée d'un front de gel de part et d'autre des échantillons créant des contraintes en tension trop importantes en leur centre. Grâce aux résultats expérimentaux et aux observations de Cheng et al., il a été possible d'établir une courbe théorique de l'évolution de la résistance et du module élastique en fonction de la teneur en carbonate de calcium.

Ces travaux préliminaires peuvent être les premiers d'une longue série. L'hiver étant rude dans de nombreux pays, notamment dans la province du Québec au Canada, son impact est important sur plusieurs structures, notamment les routes. Après ces résultats prometteurs et pour parfaire les connaissances plusieurs recherches peuvent être envisagées, notamment (1) des tests avec l'avancée d'un front de gel d'un seul côté des échantillons, (2) des tests similaires sur des échantillons avec une teneur plus importante en carbonate de calcium et (3) des tests de modification du débit d'injection dans une optique d'amélioration de l'homogénéité du traitement. Finalement, la question de l'impact environnemental des rejets du traitement devra être considérée dans la suite des travaux.

BIBLIOGRAPHIE

- Bardet, J. P. (1997). Experimental soil mechanics.
- Bayram, F. (2012). Predicting mechanical strength loss of natural stones after freeze–thaw in cold regions. *Cold Regions Science and Technology*, 83–84, 98–102. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.coldregions.2012.07.003>
- Ceryan, N., Okkan, U., & Kesimal, A. (2012). Application of Generalized Regression Neural Networks in Predicting the Unconfined Compressive Strength of Carbonate Rocks. *Rock Mechanics and Rock Engineering*, 45(6), 1055–1072. doi:10.1007/s00603-012-0239-9
- Cheng, L., & Cord-Ruwisch, R. (2012). In situ soil cementation with ureolytic bacteria by surface percolation. *Ecological Engineering*, 42(0), 64–72. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.01.013>
- Cheng, L., & Cord-Ruwisch, R. (2014). Upscaling effects of soil improvement by microbially induced calcite precipitation by surface percolation. *Geomicrobiology Journal*, 31(5), 396–406.
- Cheng, L., Cord-Ruwisch, R., & Shahin, M. A. (2013). Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *Canadian Geotechnical Journal*, 50(1), 81–90. doi:10.1139/cgj-2012-0023
- Chu, J., Stabnikov, V., & Ivanov, V. (2012). Microbially induced calcium carbonate precipitation on surface or in the bulk of soil. *Geomicrobiology Journal*, 29(6), 544–549.
- De Muynck, W., Debrouwer, D., De Belie, N., & Verstraete, W. (2008). Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials. *Cement and concrete Research*, 38(7), 1005–1014.
- DeJong, J. T., Mortensen, B. M., Martinez, B. C., & Nelson, D. C. (2010). Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197–210.
- DeJong, J. T., Soga, K., Banwart, S. A., Whalley, W. R., Ginn, T. R., Nelson, D. C., . . . Barkouki, T. (2011). Soil engineering in vivo: harnessing natural biogeochemical systems for sustainable, multi-functional engineering solutions. *Journal of the Royal Society Interface*, 8(54), 1–15. doi:DOI 10.1098/rsif.2010.0270
- Dejong, J. T., Soga, K., Kavazanjian, E., Burns, S. E., Van Paassen, L. A., Al Qabany, A., . . . Weaver, T. (2013). Biogeochemical processes and geotechnical applications: progress, opportunities and challenges. *Geotechnique*, 63(4), 287–301. doi:10.1680/geot.SIP13.P.017
- Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2012). Improvement in strength properties of ash bricks by bacterial calcite. *Ecological Engineering*, 39(0), 31–35. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.11.011>
- Girinski, O. (2009). *Pré-industrialisation d'un procédé de consolidation de sol par bio-calcification in situ*. Thèse de l'Université d'Angers.
- Gurbuz, A., Sari, Y. D., & Yuksekdog, Z. N. (2015). Bacteria-Induced Cementation in Sandy Soils. *Geomicrobiology Journal*, 32(9), 853–859.


- Gutjahr, A., Dabringhaus, H., & Lacmann, R. (1996). Studies of the growth and dissolution kinetics of the CaCO_3 polymorphs calcite and aragonite II. The influence of divalent cation additives on the growth and dissolution rates. *Journal of Crystal Growth*, 158(3), 310-315.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 95-108.
- Hammes, F., & Verstraete, W. (2002). Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 1(1), 3-7. doi:10.1023/A:1015135629155
- Harkes, M. P., van Paassen, L. A., Booster, J. L., Whiffin, V. S., & van Loosdrecht, M. C. M. (2010). Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement. *Ecological Engineering*, 36(2), 112-117. doi:10.1016/j.ecoleng.2009.01.004
- Jahns, T. (1996). Ammonium/urea-dependent generation of a proton electrochemical potential and synthesis of ATP in *Bacillus pasteurii*. *Journal of bacteriology*, 178(2), 403-409.
- Jia, H., Xiang, W., & Krautblatter, M. (2015). Quantifying Rock Fatigue and Decreasing Compressive and Tensile Strength after Repeated Freeze-Thaw Cycles. *Permafrost and Periglacial Processes*, 26(4), 368-377. doi:10.1002/ppp.1857
- Kabasci, S., Althaus, W., & Weinspach, P. (1996). Batch-Precipitation of Calcium-Carbonate from Highly Supersaturated Solutions. *Chemical engineering research & design*, 74(7), 765-772.
- Li, G., Ma, W., Zhao, S., Mao, Y., & Mu, Y. (2014). Effect of Freeze-Thaw Cycles on Mechanical Behavior of Compacted Fine-Grained Soil. *Bridges*, 10, 9780784412473.9780784412008.
- Liu, Z., Shao, J., Xu, W., & Wu, Q. (2015). Indirect estimation of unconfined compressive strength of carbonate rocks using extreme learning machine. *Acta Geotechnica*, 10(5), 651-663. doi:10.1007/s11440-014-0316-1
- Mitchell, A. C., & Ferris, F. G. (2006). The influence of *Bacillus pasteurii* on the nucleation and growth of calcium carbonate. *Geomicrobiology Journal*, 23(3-4), 213-226.
- Nehrke, G., & Van Cappellen, P. (2006). Framboidal vaterite aggregates and their transformation into calcite: a morphological study. *Journal of Crystal Growth*, 287(2), 528-530.
- Ozdogan, A. (2010). *A study on the triaxial shear behavior and microstructure of biologically treated sand specimens*. (Master degree), University of Delaware.
- Prescott, H., Klein. (2003). *Microbiologie*.
- Québec, M. d. t. d. (2015). Bilan de l'état des chaussées du réseau supérieur Québécois.
- Rhiel, F. (2014). *Étude technico-économique de la biocalcification*. Retrieved from École polytechnique de Montréal:
- Santonja Rey, L. (2013). *Amélioration des propriétés des sols sableux par biocalcification*. Retrieved from

- Scholl, M. A., Mills, A. L., Herman, J. S., & Hornberger, G. M. (1990). The influence of mineralogy and solution chemistry on the attachment of bacteria to representative aquifer materials. *Journal of Contaminant Hydrology*, 6(4), 321-336.
- St-Onge, B. (2016). *Experimental assessment of the critical state behavior of undrained sands treated by microbially induced calcite precipitation*. Retrieved from
- Stchouzkoy-Muxart, T. (1971). Contribution à l'étude de la solubilité de la calcite dans l'eau en présence d'anhydride carbonique, à 20°C et 30°C. *Bulletin de l'Association de géographes français*, 215-226.
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J. K., & Bang, S. S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1563-1571. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00082-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6)
- Van Paassen, L. A., Daza, C. M., Staal, M., Sorokina, D. Y., Van der Zon, W., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2010). Potential soil reinforcement by biological denitrification. *Ecological Engineering*, 36(2), 168-175.
- van Paassen, L. A., Ghose, R., van der Linden, T. J., van der Star, W. R., & van Loosdrecht, M. C. (2010). Quantifying biomediated ground improvement by ureolysis: large-scale biogROUT experiment. *Journal of geotechnical and geoenvironmental engineering*, 136(12), 1721-1728.
- Vegas, I., Urreta, J., Frías, M., & García, R. (2009). Freeze-thaw resistance of blended cements containing calcined paper sludge. *Construction and Building Materials*, 23(8), 2862-2868. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2009.02.034>
- Warren, L. A., Maurice, P. A., Parmar, N., & Ferris, F. G. (2001). Microbially mediated calcium carbonate precipitation: implications for interpreting calcite precipitation and for solid-phase capture of inorganic contaminants. *Geomicrobiology Journal*, 18(1), 93-115.
- Whiffin, V. S. (2004). *Microbial CaCO₃ precipitation for the production of biocement*. Murdoch University.
- Whiffin, V. S., van Paassen, L. A., & Harkes, M. P. (2007). Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal*, 24(5), 417-423.
- Wiley, W., & Stokes, J. (1962). Requirement of an alkaline pH and ammonia for substrate oxidation by *Bacillus pasteurii*. *Journal of bacteriology*, 84(4), 730-734.
- Wiley, W., & Stokes, J. (1963). Effect of pH and ammonium ions on the permeability of *Bacillus pasteurii*. *Journal of bacteriology*, 86(6), 1152-1156.
- Wray, J. L., & Daniels, F. (1957). Precipitation of calcite and aragonite. *Journal of the American Chemical Society*, 79(9), 2031-2034.
- Yang, Z., & Cheng, X. (2013). A performance study of high-strength microbial mortar produced by low pressure grouting for the reinforcement of deteriorated masonry structures. *Construction and Building Materials*, 41, 505-515. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2012.12.055>
- Yavuz, H., Altindag, R., Sarac, S., Ugur, I., & Sengun, N. (2006). Estimating the index properties of deteriorated carbonate rocks due to freeze-thaw and thermal shock weathering.

International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences, 43(5), 767-775.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrmms.2005.12.004>

- Yoon, J.-H., Lee, K.-C., Weiss, N., Kho, Y. H., Kang, K. H., & Park, Y.-H. (2001). *Sporosarcina aquimarina* sp. nov., a bacterium isolated from seawater in Korea, and transfer of *Bacillus globisporus* (Larkin and Stokes 1967), *Bacillus psychrophilus* (Nakamura 1984) and *Bacillus pasteurii* (Chester 1898) to the genus *Sporosarcina* as *Sporosarcina globispora* comb. nov., *Sporosarcina psychrophila* comb. nov. and *Sporosarcina pasteurii* comb. nov., and emended description of th. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(3), 1079-1086.
- Zhang, Y., Guo, H., & Cheng, X. (2014). Influences of calcium sources on microbially induced carbonate precipitation in porous media. *Materials Research Innovations*, 18(sup2), S2-79-S72-84.
- Zhang, Y., Guo, H., & Cheng, X. (2015). Role of calcium sources in the strength and microstructure of microbial mortar. *Construction and Building Materials*, 77, 160-167.

ANNEXE A Qualité de l'eau de la ville de Montréal

Montréal  Division de l'expertise technique	QUALITÉ DE L'EAU POTABLE PRODUITE PAR LES USINES ATWATER ET CHARLES-J.-DES-BAILLETS ET DISTRIBUÉE EN RÉSEAU	2014
---	---	-------------

PARAMÈTRES	RECOMMANDATIONS SANTÉ CANADA (2014)	RÈGLEMENT SUR LA QUALITÉ DE L'EAU POTABLE (Q-2,r.40)	EAU POTABLE		
			CONCENTRATION		
			MIN.	MOY.	MAX
CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES					
Conductivité sp. (µS/cm)**	-	-	255	307	336
Couleur (U.C.V.)**	≤ 15 ¹	-	0	2	10
Indice d'agressivité pH+log(alc*dt)**	-	-	11.5	12.0	12.4
Indice de Ryznar (2pHs-pH)**	-	-	7.8	8.7	9.8
Indice de saturation Langelier (pH-pHs)**	-	-	-0.94	-0.38	0.33
pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6.8	7.7	8.2
Solides fixes (mg/L)**	-	-	129	144	175
Solides totaux (mg/L)**	≤ 500 ¹	-	164	182	276
Température (°C)**	-	-	0	11	24
Turbidité (U.T.N.)	≤ 1 ⁵	≤ 5 / ≤ 1 ²	0.14	0.35	2.14
CARACTÉRISTIQUES BACTÉRIOLOGIQUES					
			MOYENNE ANNUELLE		
Coliformes totaux (PRE ou ABS/100mL)	> 90 % ABS ⁴	> 90 % ABS ⁴	99.96 % ABS ⁴		
E.coli (PRE ou ABS/100mL)	ABS ⁴	< 1 ou ABS ⁴	100 % ABS ⁴		
BHAA (U.F.C/mL)	—	—	< 0.90 (moyenne géométrique)		
CARACTERISTIQUES CHIMIQUES INORGANIQUES ET ORGANIQUES (mg/l)					
			MIN	MOY	MAX
Antimoine (Sb)	≤ 0,006	≤ 0,006	0.00012	0.00012	0.00012
Alcalinité (éq.CaCO ₃)**	-	-	77	88	95
Aluminium (Al) **	≤ 0,1	-	0.00437	0.08266	0.34153
Argent (Ag) **	-	-	< 0.00003	0.00003	0.00004
Arsenic (As)	≤ 0,010	≤ 0,010	0.00062	0.00070	0.00077
Baryum (Ba)	≤ 1	≤ 1,0	0.02180	0.02234	0.02287
Bore (B)	≤ 5	≤ 5,0	0.04	0.05	0.05
Bromates (BrO ₃)*	≤ 0,01	≤ 0,010	<0.0001	<0.0002	<0.0005
Cadmium (Cd)	≤ 0,005	≤ 0,005	<0.00003	<0.00003	<0.00003
Calcium (Ca) **	-	-	26.80	31.02	33.91
Carbone organique total**	-	-	1.18	2.05	4.52
Chlorures (Cl)**	≤ 250 ¹	-	23.40	26.15	28.33
Chrome total (Cr)	≤ 0,05	≤ 0,050	0.00003	0.00005	0.00007
Cobalt (Co) **	-	-	< 0.00002	0.00003	0.00006
Cuivre (Cu) ⁷	≤ 1,0 ¹	≤ 1,0	0.0832	0.0931	0.1031
Cyanures (CN)	≤ 0,2	≤ 0,20	<0.004	<0.004	<0.004
Dureté totale (CaCO ₃)**	-	-	99	115	126
Fer (Fe) **	≤ 0,3 ¹	-	0.01	0.03	0.07
Fluorures (F ⁻)	≤ 1,5	≤ 1,50	0.12	0.13	0.13
Magnésium (Mg) **	-	-	6.94	8.03	9.27
Manganèse (Mn) **	≤ 0,05 ¹	-	0.00001	0.00026	0.00106
Mercure (Hg)	≤ 0,001	≤ 0,001	<0.00003	<0.00003	<0.00003
Nickel (Ni) **	-	-	0.00003	0.00046	0.00059
Nitrites + nitrates (N)	≤ 10	≤ 10,0	0.19	0.30	0.40
Phosphates totaux (P)**	-	-	0.006	0.007	0.008
Plomb (Pb) ⁷	≤ 0,01	≤ 0,010	0.00080	0.00102	0.00124
Potassium (K) **	-	-	1.35	1.55	1.73
Sélénium (Se)	≤ 0,05	≤ 0,010	<0.0002	<0.0002	<0.0002
Silice (SiO ₂)**	-	-	0.41	1.01	1.70
Sodium (Na) **	≤ 200 ¹	-	10.97	14.07	17.60
Sulfates (SO ₄)**	≤ 500 ¹	-	19.96	24.02	27.13
Uranium (U)	≤ 0,02	≤ 0,020	0.00035	0.00035	0.00035
Zinc (Zn) **	≤ 5,0 ¹	-	< 0.00017	0.00110	0.00307


Sommaire annuel 2014 par Mylène Rémillard et Magalie Joseph, chimistes et Laurent Laroche, chef de section

Montréal Division de l'expertise technique	QUALITÉ DE L'EAU POTABLE PRODUITE PAR LES USINES ATWATER ET CHARLES-J.-DES-BAILLETS ET DISTRIBUÉE EN RÉSEAU	2014
--	---	-------------

PARAMÈTRES	RECOMMANDATIONS SANTÉ CANADA (2014)	RÈGLEMENT SUR LA QUALITÉ DE L'EAU POTABLE (Q-2,r.40)	EAU POTABLE MONTREAL
			MAXIMUM MESURÉ
SUBSTANCES ORGANIQUES			
CARBAMATES (µg/L)			
Bendiocarbe*	≤ 40	≤ 27	N.D.
Carbaryl*	≤ 90	≤ 70	N.D.
Carbofurane*	≤ 90	≤ 70	N.D.
COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS (µg/L)			
1,1,1,2-Tétrachloroéthane	-	-	N.D.
1,1,1-Trichloroéthane	-	-	N.D.
1,1,2,2-Tétrachloroéthane	-	-	N.D.
1,1,2-Trichloroéthane	-	-	N.D.
1,1-Dichloroéthane	-	-	N.D.
1,1-Dichloroéthylène	≤ 14	≤ 10	N.D.
1,1-Dichloropropène	-	-	N.D.
1,2,3-Trichlorobenzène	-	-	N.D.
1,2,3-Trichloropropane	-	-	N.D.
1,2,4-Trichlorobenzène	-	-	N.D.
1,2,4-Triméthylbenzène	-	-	N.D.
1,2-Dibromo-3-chloropropane	-	-	N.D.
1,2-Dibromoéthane	-	-	N.D.
1,2-Dichlorobenzène	≤ 200	≤ 150	N.D.
1,2-Dichloroéthane	≤ 5	≤ 5	N.D.
1,2-Dichloropropane	-	-	N.D.
1,3,5-Triméthylbenzène	-	-	N.D.
1,3-Dichlorobenzène	-	-	N.D.
1,3-Dichloropropane	-	-	N.D.
1,4-Dichlorobenzène	≤ 5	≤ 5	N.D.
1-Chlorobutane	-	-	N.D.
1-Propène,3-chloro	-	-	N.D.
2,2-Dichloropropane	-	-	N.D.
2-Butanone	-	-	N.D.
2-Chlorotoluène	-	-	N.D.
2-Nitropropane	-	-	N.D.
4-Chlorotoluène	-	-	N.D.
4-Isopropytoluène	-	-	N.D.
Acrylonitrile	-	-	N.D.
Benzène	≤ 5	≤ 0,5	N.D.
Bromobenzène	-	-	N.D.
Bromochlorométhane	-	-	N.D.
Bromoforme	-	Voir note 3	0.3 ⁶
Bromodichlorométhane	-	Voir note 3	14.8 ⁶
Bromométhane	-	-	N.D.
Chloroacétonitrile	-	-	N.D.
Chlorobenzène	≤ 80	≤ 80	N.D.
Chlorodibromométhane	-	Voir note 3	4.9 ⁶
Chloroéthane	-	-	N.D.
Chloroforme	-	Voir note 3	85.9 ⁶
Chlorométhane	-	-	N.D.
Chlorure de vinyle	≤ 2	≤ 2	N.D.

Montréal Division de l'expertise technique	QUALITÉ DE L'EAU POTABLE PRODUITE PAR LES USINES ATWATER ET CHARLES-J.-DES-BAILLETS ET DISTRIBUÉE EN RÉSEAU	2014
--	---	-------------

PARAMÈTRES	RECOMMANDATIONS SANTÉ CANADA (2014)	RÈGLEMENT SUR LA QUALITÉ DE L'EAU POTABLE (Q-2,r.40)	EAU POTABLE
			MAXIMUM MESURÉ
cis-1,2-Dichloroéthylène	-	-	N.D.
cis-1,3-Dichloropropène	-	-	N.D.
Dibromométhane	-	-	N.D.
Dichlorodifluorométhane	-	-	N.D.
Dichlorométhane	≤ 50	≤ 50	N.D.
Diéthyléther	-	-	N.D.
Disulfure de carbone	-	-	N.D.
Ethylbenzène	≤ 140 et ≤ 1.6 ¹	-	N.D.
Hexachlorobutadiène	-	-	N.D.
Hexachloroéthane	-	-	N.D.
Isopropylbenzène	-	-	N.D.
Méthacrylonitrile	-	-	N.D.
Méthyl acrylate	-	-	N.D.
Méthyl méthacrylate	-	-	N.D.
MTBE(méthyl tert-butyl éther)	≤ 1.5 ¹	-	N.D.
m-Xylène + p-Xylène + o-Xylène	≤ 300 ¹	-	N.D.
Naphtalène	-	-	N.D.
n-Butylbenzène	-	-	N.D.
n-Propylbenzène	-	-	N.D.
Propionitrile	-	-	N.D.
sec-Butylbenzène	-	-	N.D.
Styrène	-	-	N.D.
tert-Butylbenzène	-	-	N.D.
Tétrachloroéthylène	≤ 30	≤ 30	N.D.
Tétrachlorure de carbone	2	≤ 5	N.D.
Tétrahydrofurane	-	-	N.D.
Toluène	≤ 60 et ≤ 24 ¹	-	N.D.
trans-1,2-Dichloroéthylène	-	-	N.D.
trans-1,3-Dichloropropène	-	-	N.D.
Trans-1,4-dichloro-2-butène	-	-	N.D.
Trichloroéthylène	≤ 5	≤ 5	N.D.
Trichlorofluorométhane	-	-	N.D.
Trihalométhanés totaux	-	Voir note 3	98 ⁶
Trihalométhanés totaux - Concentration moyenne annuelle	≤ 100	≤ 80 ³	60.7
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES (µg/L)			
2,3,4,6-Tétrachlorophénol *	≤ 100	≤ 70	N.D.
2,4 -Dichlorophénol *	≤ 900	≤ 700	N.D.
2,4,6-Trichlorophénol *	≤ 5	≤ 5	N.D.
Pentachlorophénol *	≤ 60	≤ 42	N.D.
GLYPHOSATE (µg/L)			
Glyphosate*	≤ 280	≤ 210	N.D.
HAP (µg/L)			
Benzo(a)pyrène *	≤ 0,01	≤ 0,01	N.D.
HERBICIDES (µg/L)			
Atrazine et métabolites*	≤ 5	≤ 3,5	N.D.
Cyanazine*	≤ 10	≤ 9	N.D.
Métribuzine*	≤ 80	≤ 60	N.D.
Simazine*	≤ 10	≤ 9	N.D.

Montréal  Division de l'expertise technique	QUALITÉ DE L'EAU POTABLE PRODUITE PAR LES USINES ATWATER ET CHARLES-J.-DES-BAILLETS ET DISTRIBUÉE EN RÉSEAU	2014
---	---	-------------

PARAMÈTRES	RECOMMANDATIONS SANTÉ CANADA (2014)	RÈGLEMENT SUR LA QUALITÉ DE L'EAU POTABLE (Q-2,r.40)	EAU POTABLE MONTREAL
			MAXIMUM MESURÉ
PESTICIDES DE TYPE CHLOROPHÉNOXY CARBOXYLIQUE ET TRICHLOROACÉTATE (µg/L)			
2,4-D*	≤ 100	≤ 70	N.D.
Dicamba*	≤ 120	≤ 85	N.D.
Dinosèbe*	≤ 10	≤ 7	N.D.
Piclorame*	≤ 190	≤ 140	N.D.
PESTICIDES ORGANOCHLORES (µg/L)			
Métolachlore*	≤ 50	≤ 35	N.D.
Méthoxychlore *	≤ 900	≤ 700	N.D.
Trifluraline*	≤ 45	≤ 35	N.D.
PESTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS (µg/L)			
Azinphos méthyle*	≤ 20	≤ 17	N.D.
Chlorpyrifos*	≤ 90	≤ 70	N.D.
Diazinon *	≤ 20	≤ 14	N.D.
Diméthoate*	≤ 20	≤ 14	N.D.
Diuron*	≤ 150	≤ 110	N.D.
Malathion*	≤ 190	≤ 140	N.D.
Parathion *	≤ 50	≤ 35	N.D.
Phorate*	≤ 2	≤ 1.4	N.D.
Terbufos*	≤ 1	≤ 0.5	N.D.
AUTRES (µg/L)			
Acides haloacétiques*- Concentration moyenne annuelle	≤ 100	≤ 60	29.3
Acide nitrilotriacétique	≤ 400	≤ 200	35
Bromoxynil*	≤ 5	≤ 3.5	N.D.
Diclofop-méthyle*	≤ 9	≤ 7	N.D.
Diquat *	≤ 70	≤ 50	N.D.
Paraquat * (en dichlorures)	≤ 10	≤ 7	N.D.

* : Échantillon dans le réseau; analysé en sous-traitance

** : Échantillon à la sortie des usines

N.D. : Non détecté, plus bas que la limite de détection établie selon la méthode en vigueur

D. : Détecté, mais non quantifiable

Notes :

1 Objectif de qualité esthétique ou organoleptique

2 La turbidité doit être inférieure ou égale à 5 UTN, et ne doit pas dépasser 1,0 UTN dans plus de 5% des mesures au cours d'une période de 30 jours

3 La concentration moyenne annuelle des trihalométhanes totaux (chloroforme, bromodichlorométhane, chlorodibromométhane et bromoforme) ne doit pas excéder 80 µg/L (ces mesures sont prises en extrémité de réseau)

4 ABS = absence

5 Objectif de qualité pour la santé

6 Valeur maximale obtenue à un point d'échantillonnage

7 Concentration au centre du réseau de distribution. Lorsqu'échantillonné en présence d'entrées de service en plomb, les teneurs obtenues sont celles retrouvées plus bas

Réseau de distribution	MIN	MOYENNE	MAX
Plomb (mg/L)			
Montréal	0.01024	0.019634	0.06046
Cuivre(mg/L)			
Montréal	0.02794	0.05694	0.09950

ANNEXE B Efficacité de la précipitation

Tableau B.1 : Efficacité de la réaction

Élément formé	formule	Masse Molaire total, g/mol	%Ca	%C	%O	%N	%H	%Na	%Cl
calcite	CaCO_3	100	0,40	0,12	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00

Éléments injectés	formule	Masse Molaire total, g/mol	%Ca	%C	%O	%N	%H	%Na	%Cl
chlorure de calcium	$\text{CaCl}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$	146,9	0,27	0,00	0,22	0,00	0,03	0,00	0,48
Urée	$\text{NH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$	60	0,00	0,20	0,27	0,47	0,07	0,00	0,00
Bicarbonate de soude	NaHCO_3	84	0,00	0,14	0,57	0,00	0,01	0,27	0,00

Tableau B.2: Efficacité de la précipitation

cycle	Ec h	M gagné e (g)	Delta M+ (g)	Delta M-(g)	M Max (g)	M Min (g)	Eff Max, en %	Eff Min, en %	Si 100% de Précipitation, Masse de (g)	Masse en %, pour efficacité de 100%
0	5	20,16	0,574	1,580	20,73	18,580	33	27	36,42	12,4
0	14	17,4	0,565	1,567	17,96	15,833	26	20	36,42	12,2
0	15	21,41	1,637	1,587	23,04	19,823	43	34	36,42	12,2
1	1	11,48	1,063	1,538	12,54	9,942	38	31	36,42	12,2
1	19	14,96	1,078	1,556	16,03	13,404	58	51	36,42	12,0
1	21	14,47	1,075	1,552	15,54	12,918	34	27	36,42	11,9
2	2	8,81	2,596	1,524	11,40	7,286	29	18	36,42	12,3
2	13	15,41	1,288	1,557	16,69	13,853	42	34	36,42	12,4
2	17	20,34	1,312	1,582	21,65	18,758	51	43	36,42	12,0
3	8	13,88	1,595	1,550	15,47	12,330	45	36	36,42	12,3
3	12	13,28	1,590	1,545	14,87	11,735	42	33	36,42	12,1
3	16	11,25	1,061	1,536	12,31	9,714	39	32	36,42	12,0
5	6	11,3	2,099	1,537	13,39	9,763	48	38	36,42	12,3
5	18	18,59	2,150	1,572	20,74	17,018	54	43	36,42	12,3
5	20	15,74	2,130	1,558	17,87	14,182	65	55	36,42	11,9
7	4	12,82	2,628	1,543	15,44	11,277	38	27	36,42	12,4
7	9	17,15	2,666	1,564	19,81	15,586	63	52	36,42	12,3
7	10	14,78	2,648	1,554	17,42	13,226	58	47	36,42	12,5
10	3	14,07	3,162	1,549	17,23	12,521	50	37	36,42	12,3
10	7	8,09	3,101	1,519	11,19	6,571	52	39	36,42	12,4
10	11	13,74	3,157	1,547	16,89	12,193	48	35	36,42	12,1
Moyenn							46	36		
Max							65	-		
Min							-	18		